

**T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**MİKROBİYAL YAKIT HÜCREŞİ TEKNOLOJİSİ İLE
DOĞRUDAN ELEKTRİK ÜRETİMİ**

BÜŞRA AKOĞLU

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
ÇEVRE MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN
YRD. DOÇ. DR. BESTAMİN ÖZKAYA**

İSTANBUL, 2011

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**MİKROBİYAL YAKIT HÜCRESİ TEKNOLOJİSİ İLE DOĞRUDAN
ELEKTRİK ÜRETİMİ**

Büşra AKOĞLU tarafından hazırlanan tez çalışması 20.06.2011 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı

Yrd. Doç. Dr. Bestamin ÖZKAYA
Yıldız Teknik Üniversitesi

Jüri Üyeleri

Yrd. Doç. Dr. Bestamin ÖZKAYA
Yıldız Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. İsmail KOYUNCU
İstanbul Teknik Üniversitesi

Doç. Dr. Mehmet ÇAKMAKCI
Yıldız Teknik Üniversitesi

Bu alışma, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu'nun (TÜBİTAK)
109Y269 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Çalışmam boyunca değerli bilgi ve birikimini benden esirgemeyen, tüm aşamalardaki yardımlarıyla tezime üstün katkılar sağlayan, zor durumlarda cesaretlendiren ve güvenini her zaman hissettiren tez danışmanım, kıymetli hocam Yrd. Doç. Dr. Bestamin ÖZKAYA'ya içten teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuar çalışmaları boyunca yardımlarını esirgemeyen, değerli tecrübelerini paylaşan saygıdeğer hocam Yrd. Doç. Dr. Doğan KARADAĞ'a,

Bilgi ve tecrübelerinden her zaman istifade ettiğim, tavsiyeleriyle yol gösteren değerli hocam Dr. Tamer COŞKUN'a,

Laboratuar çalışmalarında yardım ve desteğini esirgemeyen proje arkadaşım Gökçen ACI'ya,

Çalışmam boyunca gösterdikleri ilgi, alaka ve anlayıştan dolayı sevgili arkadaşlarım Kübra ULUCAN'a, Nihan COŞKUN'a ve destekleriyle yanımda olan tüm arkadaşlarıma,

Yüksek lisans eğitimim esnasında dünyaya gelen, varlığıyla sonsuz moral, enerji ve mutluluk kaynağım olan yeğenim Zeynep'e,

Destek ve güvenlerini her zaman hissettiğim sevgili aileme teşekkürü bir borç bilirim.

Mayıs, 2011

Büşra AKOĞLU

İÇİNDEKİLER

Sayfa

SİMGE LİSTESİ	viii
KISALTMA LİSTESİ	ix
ŞEKİL LİSTESİ.....	x
ÇİZELGE LİSTESİ	xii
ABSTRACT	xiv
BÖLÜM 1	1
GİRİŞ	1
1.1 Literatür Özeti.....	1
1.2 Tezin Amacı.....	3
1.3 Hipotez.....	4
BÖLÜM 2.....	5
ANAEROBİK ARITMADA BİYOKİMYASAL SÜREÇLER	5
2.1 Anaerobik Arıtma Prosesi.....	5
2.1.1 Hidroliz.....	5
2.1.2 Asit Üretimi	6
2.1.3 Metan Üretimi	6
2.2 Anaerobik Arıtmanın Kinetiği	6
2.3 Elektron ve Enerji Kazanımı.....	7
BÖLÜM 3.....	11
MİKROBİYAL YAKIT HÜCRELERİ	11
3.1 Çalışma Prensipleri	11
3.2 Elektron Transfer Mekanizmaları	13
3.2.1 Bakteriyel Pililer (Nanowire) ile Doğrudan Transfer.....	14
3.2.2 Sitokromlar ile Hücre Yüzeyinden Doğrudan Transfer	15
3.2.3 Medyatörler ile Transfer	15
3.3 Voltaj ve Güç Üretimi.....	16
3.3.1 Voltaj Üretimi.....	16

3.3.2	Güç Üretimi	17
3.3.3	Enerji	18
3.4	MYH'lerde Kullanılan Malzemeler	19
3.4.1	Anot Malzemeleri	19
3.4.2	Katot Malzemeleri	20
3.4.3	Membran.....	21
3.5	MYH Tipleri	23
3.5.1	İki Bölmeli MYH	24
3.5.2	Tek Bölmeli MYH.....	25
3.5.3	Diğer MYH Çeşitleri	26
3.6	MYH'lerde Elektrik Üretimini Etkileyen Faktörler	28
BÖLÜM 4		31
ATIKSU ARITIMINDA MYH		31
BÖLÜM 5		34
MATERYAL VE METOT		34
5.1	Bakteriyel Zenginleştirme.....	34
5.2	Numuneler	35
5.3	Elektrotlar	36
5.3.1	Ti-TiO ₂ Elektrot.....	36
5.3.2	Grafit Elektrot.....	36
5.4	Membran Özellikleri.....	36
5.5	MYH Kurulumu ve İşletilmesi	37
5.6	Analizler.....	40
5.7	Moleküler Teknikler	41
5.7.1	Nükleik Asit Ekstraksiyonu.....	41
5.7.2	Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)	42
5.7.3	Denatüre Gradyan Jel Elektroforezi (DGGE)	43
5.7.4	DNA Dizi Analizi.....	43
5.7.5	Filojenik Ağaç	44
5.8	Kinetik Modelleme	44
BÖLÜM 6		46
DENEY SONUÇLARI VE DEĞERLENDİRMELER		46
6.1	Reaktörlerin Devreye Alınması	46
6.1.1	Kültür Zenginleştirme Çalışmaları	46
6.1.2	MYH'lerin Devreye Alınması	48
6.2	pH.....	51
6.3	Uçucu Yağ Asiti (UYA)	52
6.4	Ti-TiO ₂ MYH ile Elde Edilen Elektriksel Sonuçlar	53
6.5	Grafit MYH ile Elde Edilen Elektriksel Sonuçlar	57
6.6	Elektrot Performanslarının Karşılaştırılması	61
6.7	Mikrobiyal Tür Analizi Sonuçları.....	63
6.8	Kinetik Modelleme Sonuçları	65
6.9	Değerlendirmeler	67

BÖLÜM 7.....	71
SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	71
KAYNAKLAR.....	74
EK-A.....	80
MAKALE	80
EK-B.....	100
ULUSLARARASI BİLDİRİ	100
EK-C.....	109
ULUSLARARASI BİLDİRİ	109
ÖZGEÇMİŞ.....	111

SİMGELİSTESİ

C_p	Anot bölmesinde üretilen ve anot elektrotta transfer edilen kolomb miktarı
E_C	Kolombik verim
E_0	Redüksiyon potansiyeli
F	Faraday sabiti
I	Akım
J	Substrat tüketim hızı
j_{max}	Maksimum akım yoğunluğu
P	Güç
P_{DA}	Elektrot alanına bağlı güç yoğunluğu
P_{DV}	Anot hacmine bağlı güç yoğunluğu
R	Direnç
S	Substrat konsantrasyonu
T	Sıcaklık
Ti	Titanyum
V	Voltaj
v	Anot bölmesinin hacmi
ΔG^0	Gibbs serbest enerjisi

KISALTMA LİSTESİ

ARB	Anot solunum bakterileri (Anode Respiring Bacteria)
CE	Kolombik Verim (Coulombic Efficiency)
DGGE	Denatüre Gradyan Jel Elektroforezi (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis)
KOI	Kimyasal Oksijen İhtiyacı
MYH	Mikrobiyal Yakıt Hücresi
ORP	Oksidasyon Redüksiyon Potansiyeli
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction)
TOK	Toplam Organik Karbon
UYA	Uçucu Yağ Asiti

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 2. 1 Anaerobik arıtmanın genel işleyiş mekanizması	6
Şekil 2. 2 <i>Clostridium acetobutylicum</i> bakterisinin ATP üretmek ya da NADH rejenerasyonu için farklı fermentasyon yolları [2].....	10
Şekil 3. 1 Basit bir MYH yapısı [12]	12
Şekil 3. 2 Mikrobiyal yakıt hücrelerinde iyon transferi [13]	13
Şekil 3. 3 Elektron transfer mekanizmaları (a) Doğrudan transfer (b) Bakteriyel pililer ile doğrudan transfer (c) Medyatörler ile transfer [14]	14
Şekil 3. 4 <i>Shewanella oneidensis</i> tarafından üretilen pililer [2].....	14
Şekil 3. 5 MYH’de redoks ile voltaj birikimi arasındaki ilişki [18]	17
Şekil 3. 6 İki bölmeli MYH [9]	24
Şekil 3. 7 Tek bölmeli MYH reaktörleri (A)Tek bölmeli hava katot reaktör, elektrotlar ayrı (B) Tek bölmeli hava katot reaktör, elektrotlar membrana bitişik [3]. M, Medyatör; CHO, organikler.	25
Şekil 3. 8 Farklı hacimlerdeki tek bölmeli MYH’ler. (A)28 mL (B)250 mL (C)1 L (D)1,6 L [41]	26
Şekil 3. 9 (A) Tüp şeklindeki MYH reaktörü, (B) Perdeli MYH reaktörü [9]	27
Şekil 3. 10 Yukarı akışlı MYH reaktörü [43]	27
Şekil 5. 1 MYH sistemi (1: Anot bölgesi, 2: Katot bölgesi, 3: Referans elektrot, 4: Anot ve katot elektrotlar, 5: Membran)	38
Şekil 5. 2 Sistemin genel görünümü	38
Şekil 5. 3 Dijital Multimetre (Fluke-8846)	39
Şekil 5. 4 Voltaj ölçüm sistemi	39
Şekil 5. 5 Moleküler analiz yöntemlerinin uygulama akış şeması.....	42
Şekil 5. 6 Bir PCR döngüsü [50].....	43
Şekil 6. 1 Kültür zenginleştirilmesi yapılan şişelerden görüntüler	46
Şekil 6. 2 Kültür zenginleştirilmesi yapılan şişelerden görüntüler	47
Şekil 6. 3 Ti-TiO ₂ elektrot ile elde edilen akım ve güç yoğunlukları (elektrot alanına bağlı)	49
Şekil 6. 4 Ti-TiO ₂ elektrot ile elde edilen akım ve güç yoğunlukları (anot bölgesinin hacmine bağlı).....	50
Şekil 6. 5 Elektrot ve membran üzerinde biyofilm oluşumu	51
Şekil 6. 6 Ti-TiO ₂ MYH’nin anot ve katot bölmelerinin pH değerleri.....	51
Şekil 6. 7 Grafit MYH’nin anot ve katot bölmelerinin pH değerleri	52
Şekil 6. 8 Günlük maksimum akım, voltaj ve güç değerleri	54
Şekil 6. 9 Elektrot alanına bağlı olarak hesaplanan günlük maksimum akım ve güç yoğunlukları	55

Şekil 6. 10	Anot bölmesinin hacmine bağlı olarak hesaplanan günlük maksimum akım ve güç yoğunlukları.....	56
Şekil 6. 11	Ti-TiO ₂ reaktörüne ait Anot – Katot bölmelerinin oksidasyon redüksiyon potansiyelleri.....	57
Şekil 6. 12	Günlük max değerlerle voltaj, akım ve güç değerleri.....	58
Şekil 6. 13	Günlük maksimum değerlerle alana bağlı akım ve güç yoğunlukları	59
Şekil 6. 14	Günlük maksimum değerlerle hacime bağlı akım ve güç yoğunlukları	60
Şekil 6. 15	Grafit MYH'ye ait Anot – Katot bölmelerinin oksidasyon redüksiyon potansiyelleri.....	61
Şekil 6. 16	Elektrot performanslarının karşılaştırılması	62
Şekil 6. 17	PCR sonrası agaroz jel görüntüsü	63
Şekil 6. 18	DGGE profili (A: Karbon elektrotlu MYH, B: Ti-TiO ₂ elektrotlu MYH, C: Zenginleştirilmiş Haliç numunesi, D: Ti-TiO ₂ elektrotlu MYH, E: Ti-TiO ₂ elektrotlu MYH, B, D ve E numuneleri reaktörden farklı zamanlarda alınmıştır.).....	64
Şekil 6. 19	MYH'de etkin rol alan organizmalara ait filojenik ağaç	65
Şekil 6. 20	Ti-TiO ₂ MYH'de 16 günlük voltaj üretimi.....	65
Şekil 6. 21	Substrat konsantrasyonuna karşı akım yoğunluğu (A/m ²) için elde edilen eğri	66

ÇİZELGE LİSTESİ

	Sayfa
Çizelge 2. 1 Anaerobik reaksiyonlardaki bileşiklere göre mikroorganizmaların sınıflandırılması [7]	8
Çizelge 2. 2 Elektron kulesi [8]	8
Çizelge 3. 1 İki farklı proton değıştirici membranın teknik özellikleri	23
Çizelge 5. 1 Sentetik atıksuyun içeriğindeki vitaminler	34
Çizelge 5. 2 Sentetik atıksuda kullanılan kimyasallar ve konsantrasyonları	35
Çizelge 5. 3 CMI-7000 membranına ait teknik özellikler	37
Çizelge 5. 4 Fluke-8846 Dijital Multimetrenin teknik özellikleri	40
Çizelge 6. 1 Glikoz kullanarak yapılan zenginleştirme çalışmaları sonunda elde edilen biyogaz miktarları	48
Çizelge 6. 2 Uçucu yağ asidi konsantrasyonları	53
Çizelge 6. 3 İki farklı elektrot türü ile elde edilen sonuçlar	62
Çizelge 6. 4 DGGE bantlarının sekans sonuçları	64
Çizelge 6. 5 Ti-TiO ₂ MYH için elde edilen kinetik katsayılar	66
Çizelge 6. 6 Literatür çalışmalarının özeti	68
Çizelge 6. 7 Glikozla yapılan çalışmaların mukayesesi	70

MİKROBİYAL YAKIT HÜCRESİ TEKNOLOJİSİ İLE DOĞRUDAN ELEKTRİK ÜRETİMİ

Büşra AKOĞLU

Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Bestamin ÖZKAYA

Bu tez çalışmasında iki bölmeli mikrobiyal yakıt hücresi (MYH) ile karbon kaynağı olarak glikoz kullanılan sentetik atıksudan elektrik üretimi araştırılmıştır. Reaktöre verilen aşı kültürü, farklı kaynaklardan alınan bakteri kültürleri ile yapılan zenginleştirme çalışmaları sonucu elde edilmiştir. Çalışmada birinde TiO_2 kaplamalı titanyum diğesinde grafit elektrot kullanılan iki MYH kullanılmıştır. Reaktörler 1 hafta deneme amaçlı işletildikten sonra kesikli beslemeli modda devreye alınmıştır. Ti-TiO_2 ve grafit MYH ile elde edilen maksimum akım ve güç yoğunlukları sırayla 477 mA/m^2 , 2272 mW/m^2 ve 31 mA/m^2 , $9,6 \text{ mW/m}^2$ 'dir. Maksimum sonuçlar 50 mM glikoz konsantrasyonunda elde edilmiştir. PCR ve DGGE işlemlerinin ardından yapılan dizi analizi sonunda, *Enterococcus sp.* (%99), *Shewanella haliotis* (%91) ve *Vagococcus fluvialis* (%96) türlerinin MYH'de baskın olarak bulunduğu görülmüştür. Ti-TiO_2 MYH'de elde edilen ilk 15 günlük verilerle Nerst-Monod eşitliği kullanılarak biyo-elektrokimyasal kinetik model uygulanmıştır. Elde edilen biyo-elektrokimyasal kinetik denklemi MATLAB programında %95 güven aralığında doğrusal olmayan bir eğri üzerine uydurularak çözülmüştür. Kinetik katsayılar, $K_S = 2,93 \text{ mM}$, $\eta = 0,35$ ve $J_{\max} = 0,39 \text{ A/m}^2$ olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar Ti-TiO_2 elektrotun MYH'lerde güç üretiminde kullanılabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Mikrobiyal yakıt hücresi, elektrik üretimi, Ti-TiO_2 elektrot, bakteri topluluğu, mikrobiyal kinetik.

ABSTRACT

ELECTRICITY GENERATION DIRECTLY WITH MICROBIAL FUEL CELL TECHNOLOGY

Büşra AKOĞLU

Environmental Engineering

MSc. Thesis

Advisor: Assist. Prof. Dr. Bestamin ÖZKAYA

In this study, electricity generation in dual chambered microbial fuel cell (MFC) fed with synthetic wastewater containing glucose as a carbon source was investigated. Inoculum was enriched with different bacterial cultures using glucose. TiO₂ coated Ti and graphite electrodes were used in two MFCs. Start-up period of reactors lasted in one week, then reactors were operated in fed-batch mode. The maximum current and power densities of Ti-TiO₂ and Graphite MFCs are 477 mA/m², 2272 mW/m² and 31 mA/m², 9,6 mW/m², respectively. Maximum values are obtained with 50 mM glucose concentration. PCR-DGGE and Sequencing based molecular techniques results showed *Enterococcus sp.* (%99), *Shewanella haliotis* (%91) and *Vagococcus fluvialis* (%96) were dominant species in glucose fed MFCs. Further, Nerst-Monod based bioelectrochemical kinetics was applied to experimental data for calculating bio- and electrochemical kinetic constants. Observed bioelectrochemical kinetic equation was solved non-linear curve fitting tool of MATLAB with the confidence bound of 95%. Experimental data gave good fit and observed kinetic constants were K_s= 2,93 mM, η= 0,35 and J_{max}= 0,39 A/m². These results demonstrate that Ti-TiO₂ electrode can be used for power generation in MFCs.

Key words: Microbial fuel cell, electricity generation, Ti-TiO₂ electrode, bacterial community, microbial kinetic.

YILDIZ TECHNICAL UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE

GİRİŞ

1.1 Literatür Özeti

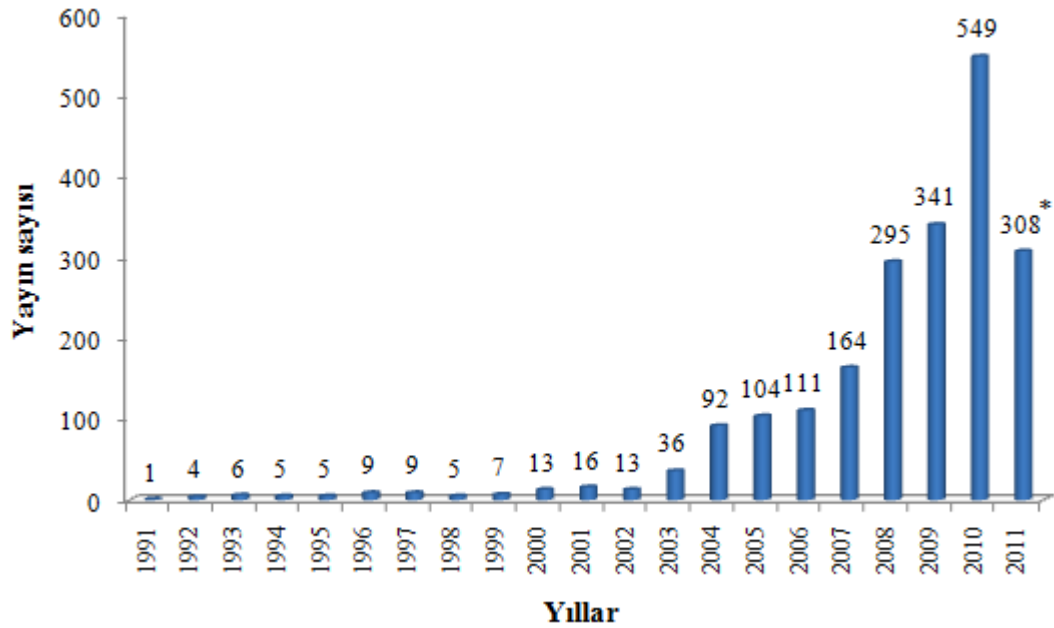
Sürdürülebilir bir yaşamın en önemli etkenlerden biri güvenli, kullanılabilir ve sağlıklı enerji üretimi yapabilmektir. Enerji, yaşantımızdaki vazgeçilmez yararlarının yanı sıra üretim, çevrim, taşınım ve tüketim esnasında büyük oranda çevre kirlenmesine de yol açmaktadır. Bu bakımdan, enerji kaynaklarının sağlanması gereken gereksinimler; iklim değişimi etkileri olmayan, zararlı atıkları barındırmayan ve uzun vadede güvenilir bir enerji kaynağı olarak kullanılmalıdır. Ancak bu gereksinimler sağlanamadığı takdirde ekonomik, çevresel ve toplum sağlığı açısından olumsuz etkiler ortaya çıkmaktadır. Dolayısıyla, verimli ve düşük karbon emisyonlu enerji kullanımı günümüzde büyük önem kazanarak yenilenebilir enerjiye olan ilgi giderek artmaktadır. Hidrojen ve doğrudan elektrik kullanımı ise bunu sağlamanın etkin yollarından biri olarak gözükmekte ve gelecek yıllarda alternatif enerji kaynakları, hidrojen elde etme yolunda birer ana kaynak olarak kullanılmaya başlanacaktır.

Mikrobiyal yakıt hücreleri (MYH), mikroorganizmaların metabolik faaliyetleriyle biyokütlenin doğrudan elektrik enerjisine dönüştüğü biyoelektrokimyasal sistemlerin başında gelmektedir. Bu bakımdan, MYH'ler gelecek vaat eden bir teknolojidir. Özellikle de atıksu kullanarak doğrudan elektrik üretilmesi, aynı zamanda atıksu arıtımının gerçekleşmesi atıksu arıtma tesislerinde işletme maliyetini dengelemektedir [1]. Bakteri kullanılarak elektrik akımının üretildiği ilk çalışma Potter tarafından 1911 yılında gerçekleştirilmiştir. 1990'lı yıllara yakıt hücreleri oldukça ilgi görmeye ve bu alanda yapılan çalışmalar artmaya başlamıştır [2].

MYH'lerin anaerobik sistemlere göre avantajları vardır. Bunlar; sistemde üretilen elektrik enerjisinin insan aktivitelerinde doğrudan kullanılabilmesi, klasik biyogaz prosesleri için uygun olmayan ancak düşük kirlilik yüküne sahip atıksuların bu teknoloji ile arıtılabilmesi, yüksek konsantrasyonda uçucu yağ asitleri, azot ve kükürt içeren bazı atıksu tipleri için de uygulanabilmesi şeklindedir [3]. MYH'lerde gaz arıtımına gerek duyulmadan organik atığın doğrudan elektrik enerjisine dönüşmesi de önemli bir avantajdır. Bir diğer avantaj, dönüşümün düşük substrat konsantrasyonlarında ve 20°C'nin altındaki sıcaklıklarda da gerçekleşebilmesidir [4].

Bütün bu avantajlarına rağmen, büyük ölçekte MYH ile gerçek atıksu arıtımı çalışılmamıştır. Bunun başlıca sebebi MYH'nin gelişmekte olan bir sistem olmasıdır [3]. Ayrıca bakım ve malzeme maliyetinin yüksek olması da önemli bir dezavantajdır [4]. Ayrıca mevcut çalışmalarda elde edilen düşük güç yoğunlukları büyük ölçekteki uygulamaları sınırlandırmaktadır. Günümüzde performansı artırmaya, yapı ve işletme maliyetini düşürmeye yönelik araştırmalar yapılmaktadır.

Şekil 1.1'de MYH ile ilgili 2011 yılının Temmuz ayına kadar çıkarılan yayın sayısı gösterilmiştir. 1998 – 2010 yılları arasında çıkan yayın sayısında 100 kat artış görülmektedir. Bu durum MYH'lerin gelecek vaat eden bir teknoloji olduğunu göstermektedir.



Şekil 1. 1 MYH ile ilgili çıkartılmış makale sayısı, *:Temmuz 2011'e kadar çıkartılmış yayın sayısı [5]

Aktif çamur sistemleri gibi klasik biyolojik atıksu arıtma prosesleri, aerobik oksidasyon ve nitrifikasyon işlemlerinde O_2 'ye ihtiyaç duyulduğundan yüksek miktarda enerji gerektirmektedir. Bu tip sistemlerde atıksuyun havalandırılması için gereken enerji, işletme maliyetinin %50'sini oluşturmaktadır. Ayrıca büyük miktarlarda arıtılması ve bertaraf edilmesi maliyetli, katı madde (arıtma çamuru) üretilmektedir. Bu durum, araştırmacıları mevcut sistemlerde maliyeti düşürmeye yönelik optimizasyona veya daha yüksek enerji verimine sahip anaerobik sistemleri araştırmaya yönlendirmiştir. MYH teknolojisi biyolojik olarak parçalanabilen organik maddelerin anaerobik oksidasyonundan elektrik üretilmesine dayanan yeni bir biyoelektrokimyasal prosestir. Bu sistemlerde aerobik sistemlere göre daha az katı madde üretilir [6].

1.2 Tezin Amacı

Bu tez çalışmasının amacı, iki farklı elektrot ile karbon kaynağı glikoz olan sentetik atıksuyun mikrobiyal yakıt hücrelerinde elektrik üretim performanslarını incelemektir. Bu amaçla anot ve katot elektrot olarak aynı boyutlarda grafit ve titanyum dioksit kaplanmış titanyum elektrot kullanılmış ve farklı glikoz besleme konsantrasyonlarında reaktör performansları izlenmiştir. Elde edilen sonuçlar biyoelektrokinetik bir modelle modellenmiş ve kinetik katsayılar elde edilmiştir. Sistemde çalışma süresince etkin olan türlerin dağılımı da yeni moleküler tekniklerle izlenmiştir.

Tez kapsamında öncelikle anaerobik arıtmanın temellerinden ve anaerobik arıtmadaki biyokimyasal süreçlerden bahsedilmiştir. Ardından mikrobiyal yakıt hücrelerinin genel mekanizması, çalışma prensibi, MYH'de elektrik üretimini etkileyen biyolojik ve elektriksel faktörler anlatılmış ve atıksu arıtımında mikrobiyal yakıt hücreleri ile ilgili literatür bilgisi verilmiştir. Çalışmada kullanılan malzemeler, reaktörleri devreye alma aşaması, yapılan analizler, tür tayinini belirlemede kullanılan moleküler teknikler materyal ve metot bölümünde anlatılmıştır. Çalışmanın "Sonuçlar ve Değerlendirmeler" bölümü; (1) Reaktörlerin devreye alınması ve kültür zenginleştirme çalışmalarının sonuçlarının değerlendirilmesi; (2) Ti-TiO₂ ve Grafit elektrotlu MYH'lerde akım, voltaj, güç ve potansiyel farkların çevrimiçi kaydetme özelliğine sahip bir sistem yardımıyla bilgisayara aktarıldığı sonuçların değerlendirilmesi; (3) Elektriksel ve biyolojik faktörlerin göz önüne alınarak elde edilen biyoelektrokimyasal kinetik denklemin lineer olmayan regresyonla çözümü ve kinetik katsayıların elde edilmesi ve değerlendirilmesi; (4) Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), Denature gradyan jel elektroforezi (DGGE) ve

dizi analizi temelli moleküler tekniklerle karbon ve titanyum elektrotlu MYH'deki tür profilinin incelenmesi ve değerlendirilmesi bölümlerinden oluşmaktadır. Sonuçlar ve öneriler bölümünde çalışmadan elde edilen sonuçlar göz önüne alınarak gelecekte yapılacak çalışmalar için öneriler yapılmıştır.

1.3 Hipotez

Çalışmada farklı tip elektrot malzemesinin kullanıldığı iki mikrobiyal yakıt hücresi ile kolay parçalanabilir bir organik madde içeren sentetik atıksudan elektrik üretimi amaçlanmıştır.

ANAEROBİK ARITMADA BİYOKİMYASAL SÜREÇLER

2.1 Anaerobik Arıtma Prosesi

Anaerobik arıtma, organik ve inorganik maddelerin, oksijenin yokluğunda mikroorganizmaların yardımıyla parçalanarak CO_2 , CH_4 , H_2S ve NH_3 gibi nihai ürünlere dönüşmesidir.

Genel olarak anaerobik arıtma üç safhada gerçekleşir:

1. Yüksek yoğunluklu organik maddelerin, daha küçük yoğunluğa sahip organik maddelere dönüşümü olan hidroliz safhası,
2. Düşük yoğunluklu organik maddelerin asit bakterilerince önce uçucu yağ asitlerine ardından asetik asite dönüşüm safhası,
3. Asetik asit, CO_2 ve H_2 ' den metan bakterileri tarafından metan üretimi safhası.

Anaerobik arıtmanın genel işleyiş şeması Şekil 2.1'de gösterilmiştir.

2.1.1 Hidroliz

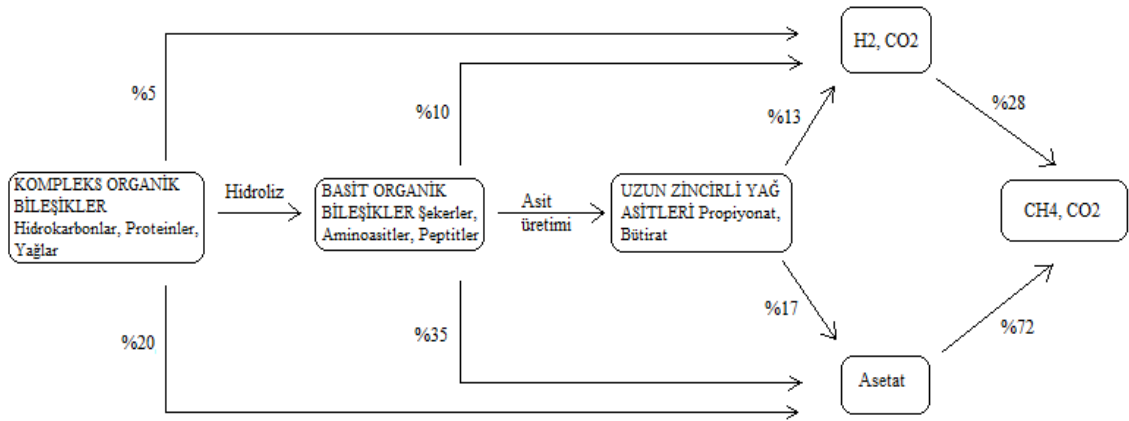
Hidroliz safhasında büyük moleküllü organik maddeler hücre dışı enzimler tarafından daha küçük moleküllü organik maddelere dönüştürülürler. Hidroliz, enzimler tarafından gerçekleştiğinden enzimlerin çalışmasını etkileyen faktörler bu safhanın hızını da etkilerler. Hidroliz safhasının hızını etkileyen faktörler pH, sıcaklık ve hidrolik bekletme süresidir. Hidrolik bekletme süresi önemli bir faktördür. Organik maddelerin hidrolizi için gerekli bekletme süresi sağlanmadığı takdirde, bir sonraki safhada gerekli basit yapıları organik maddelerin miktarı yetersiz olacaktır. Bu durum tüm akışı etkileyeceğinden sonuçta düşük metan üretimi ve arıtma verimine neden olacaktır.

2.1.2 Asit Üretimi

Asit üretim safhası organik asit ve asetik asit üretimi diye ikiye ayrılabilir. Bu safhada, hidroliz safhasında basit yapıya hale gelen organik maddeler, işletme şartlarının kararlı olması halinde bir grup bakteri tarafından asetik asite, diğer bir bakteri grubu tarafından da H_2 ' ye dönüştürülür. İşletme şartlarının kararlı olmaması halinde ise organik maddeler propiyonik ve bütirik asit gibi yağ asitlerine dönüşürler.

2.1.3 Metan Üretimi

Metan üretimi yavaş işleyen bir süreçtir ve anaerobik arıtma için hız sınırlayıcı safhadır. Bunun sebebi metan bakterilerinin asit bakterilerine oranla ortam değişikliklerine karşı daha hassas olmaları ve çoğalmalarının da daha uzun sürede olmasıdır.



Şekil 2.1 Anaerobik arıtmanın genel işleyiş mekanizması

2.2 Anaerobik Arıtmanın Kinetiği

Mikroorganizmalar kimyasal maddeleri (organikler ve inorganikler) oksidasyon ve indirgenme ile son ürünlere dönüştürerek enerji elde ederler. Elde edilen enerjinin bir kısmı hücre biyosentezinde kullanılır. Enerji; oksidasyon, redüksiyon reaksiyonları ile üretilir. Burada bir ortam veya molekülden elektronlar transfer edilir. Elektron taşıyıcıları elektronları bir ortamdan diğerine transfer ederler. Bunun olması durumunda elektron kaynağına birincil elektron vericisi ve elektron alıcısına da nihai elektron alıcısı denir [7].

2.3 Elektron ve Enerji Kazanımı

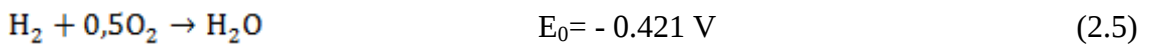
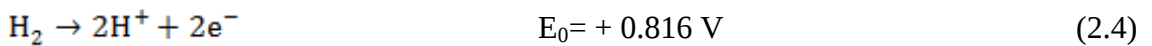
Canlı organizmalarda enerji, elektron alış verişinin olduğu oksidasyon redüksiyon (redoks) tepkimeleri ile elde edilir. Redoks tepkimeleri, elektron kaynağından açığa çıkan elektronların elektron alıcısı tarafından alındığı zaman gerçekleşir. Örneğin elektron kaynağı olarak hidrojen ve elektron alıcısı olarak oksijenin kullanıldığı ortamda redoks denklemleri şöyledir:



Elektron vericisi olan H_2 , elektron ve proton vererek okside olur (2.1). Herhangi bir oksidasyonun gerçekleşebilmesi için bir redüksiyona ihtiyaç vardır. Bu da 2.2 tepkimesinde gerçekleşir. Net tepkime bu iki yarım tepkimenin eşleşmesiyle oluşur (2.3).

Anaerobik mikroorganizmalar için karbon ve elektron kaynakları, elektron alıcıları ve oluşan ürünler Çizelge 2.1’de verilmiştir.

Bileşiklerin göstermiş olduğu farklı oksidasyon redüksiyon eğilimleri, yarım tepkimenin redüksiyon potansiyeli (E_0) şeklinde ifade edilir. Redüksiyon potansiyeli, H_2 referans alınarak, volt (V) cinsinden ölçülür. Yukarıda verilen yarım tepkimeler için redüksiyon potansiyelleri şöyledir:



Çizelge 2.2’deki elektron kulesinde, doğadaki redoks çiftleri için redüksiyon potansiyelleri verilmiştir. Sıralama negatif değerden pozitif doğru yapılır. Buna göre, kulenin tepesindeki redoks çiftinin redükte bileşiğinin (sağ taraftaki) elektron verme eğilimi ve kulenin altındaki redoks çiftinin okside bileşiğinin (sol taraftaki) elektron alma eğilimi oldukça yüksektir. İki bileşik arasındaki redüksiyon potansiyeli farkı ΔE_0 olarak ifade edilir.

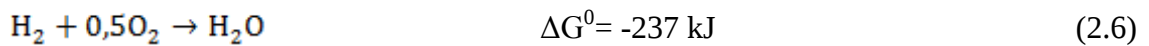
Çizelge 2.1 Anaerobik reaksiyonlardaki bileşiklere göre mikroorganizmaların sınıflandırılması [8]

Bakteri Tipi	Ortak Reaksiyon Adı	Karbon Kaynağı	Elektron Kaynağı	Elektron Alıcısı	Ürünler
Anaerobik hetetrofik	Asit fermentasyonu	Organik bileşikler	Organik bileşikler	Organik bileşikler	Uçucu yağ asitleri
	Demir giderimi	Organik bileşikler	Organik bileşikler	Demir(III)	Demir(II), CO ₂ , H ₂ O
	Sülfat giderimi	Organik bileşikler	Organik bileşikler	SO ₄	H ₂ S, CO ₂ , H ₂ O
	Metan üretimi	Organik bileşikler	Uçucu yağ asitleri	CO ₂	Metan

Çizelge 2.2 Elektron kulesi [9]

Redoks çifti	E ₀ (V)	Redoks çifti	E ₀ (V)
CO ₂ / Glikoz (24e ⁻)	-0,43	S ₄ O ₆ ²⁻ / S ₂ O ₃ ²⁻ (2e ⁻)	+0,0024
2H ⁺ / H ₂ (2e ⁻)	-0,42	Fumarat/ Süksinat (2e ⁻)	+0,03
CO ₂ /Metanol (6e ⁻)	-0,38	Fe ³⁺ /Fe ²⁺ (1e ⁻) (pH 7)	+0,2
NAD ⁺ / NADH (2e ⁻)	-0,32	Sitokrom c _{ox/red} (1e ⁻)	+0,25
CO ₂ / Asetat (8e ⁻)	-0,28	NO ₃ ⁻ / NO ₂ ⁻ (2e ⁻)	+0,42
S ⁰ / H ₂ S (2e ⁻)	-0,28	NO ₃ ⁻ / 0,5N ₂ (5e ⁻)	+0,74
SO ₄ ²⁻ / H ₂ S (8e ⁻)	-0,22	Fe ³⁺ /Fe ²⁺ (1e ⁻) (pH 2)	+0,76
Piruvat/ Laktat (2e ⁻)	-0,19	0,5O ₂ / H ₂ O (2e ⁻)	+0,82

İki yarım tepkimenin redüksiyon potansiyelleri arasındaki fark ne kadar fazlaysa, tepkimeye girdiklerinde açığa çıkan enerji miktarı da o kadar fazla olur. Örneğin hidrojenle oksijenin birleştiği tepkime sonucu -237 kJ enerji açığa çıkar [9].

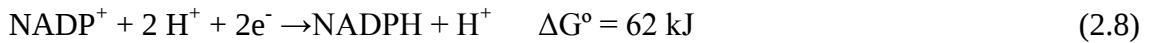
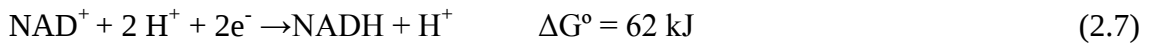


Oksidasyon redüksiyon reaksiyonları sonucunda elde edilen enerjinin hepsi bakteriler tarafından kullanılmaz. Bir kısmı ısı vb. sebeplerle kayba uğrar. Yapılan araştırmalar, bakterilerin üretilen enerjinin yaklaşık %60'ını kullanabildiklerini göstermektedir [8].

Mikroorganizmalar ve tüm yaşayan canlılar oksidasyon redüksiyon reaksiyonları sonucunda ortaya çıkan enerjiyi kullanırlar. Birincil elektron vericisinden kopartılan elektronlar, elektron taşıyıcıları ile son elektron alıcısına aktarılır. Elektron alıcısı indirgenir ve elektron taşıyıcı tekrar serbest hale geçer. Bu arada ortaya çıkan enerji, enerji taşıyıcılar yoluyla alınır.

Elektron taşıyıcılar, hücre sitoplazmasına serbestçe yayılabilen enzimler ve sitoplazma membranında enzime yapışık olanlar olmak üzere ikiye ayrılır. Hücre içine yayılan enzimlerden en önemli koenzimler, nikotinamide-adenin dinükleotit (NAD^+) ve NADP^+ dir. NAD^+ enerjinin üretildiği katabolik reaksiyonlarda, NADP^+ ise enerji gereken anabolik (biyosentez) reaksiyonlarda görev alır. Sitoplazma membranında bulunan en önemli elektron taşıyıcılar NADH dehidrojenaz, flavoproteinler, sitokrom ve kuinondur. NADH dehidrojenaz, sitoplazmik zarın iç yüzeyine bağlanmış proteinlerdir. Flavoproteinler, riboflavin türevleri içeren proteinlerdir. Sitokromlar, prostetik grup olarak demir içeren porfirin halkasına sahip proteinlerdir. Kinonlar, protein içermeyen ve hidrofobik özelliğe sahip elektron taşıma zinciri üyeleridir [7].

NAD^+ ve NADP^+ bir molekülden iki hidrojen ve iki elektron kopararak indirgenir. Reaksiyonlar şu şekildedir;



Reaksiyonların serbest enerjisi pozitifdir. Bu da NADH üretebilmek için organik molekülden enerji alınması gerektiğini gösterir.

Son elektron alıcısının O_2 olduğu durumlarda ise elektron oksijene aktarılır ve enerji üretilir.

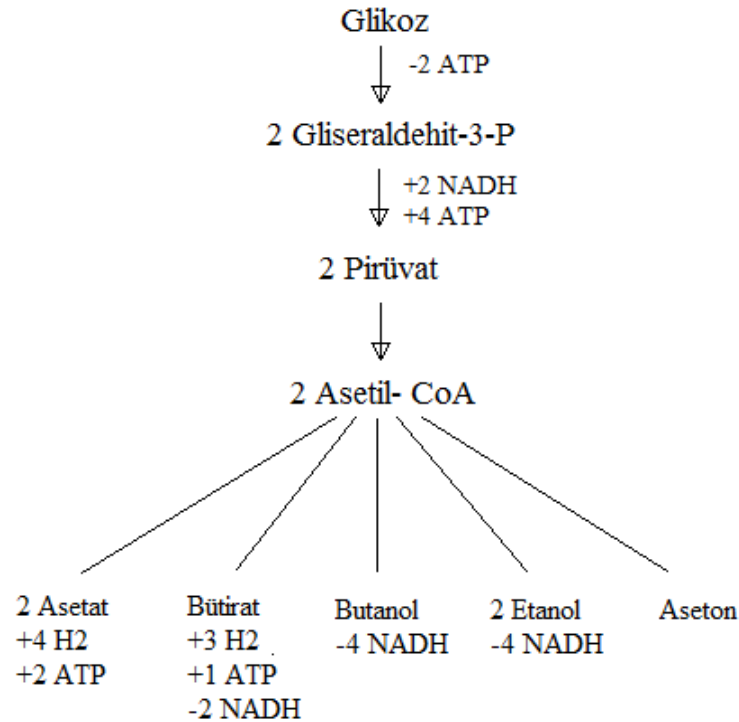


Reaksiyonlardan görüleceği gibi bir molekül NADH için – 219 kJ enerji üretilir. Üretilen bu enerji, elektron taşıyıcılar aracılığıyla enerji taşıyıcılara aktarılır. En önemli enerji taşıyıcısı adenosin trifosfat (ATP)'tır. Enerjinin elektron taşıyıcısından serbest bırakılması halinde bu enerji, bir fosfat molekülünü adenosin difosfata eklemek için kullanılır [7].



Bir mol ATP oluşabilmesi için 32 kJ enerji gerekmektedir. Yukarıdaki reaksiyonlarda bir NADH molekülünün 219 kJ enerji ürettiği görülmektedir. Buna göre teorik olarak bir NADH molekülünden yaklaşık 6 mol ATP üretilir. Fakat gerçekte bu değer, 3 mol ATP'dir. Çünkü; enerji hiçbir zaman %100 verimle aktarılamaz.

Fermentasyon, anaerobik şartlarda glikoliz yoluyla ATP üretilen biyokimyasal süreçtir. Glikoz başına 2 ATP molekülü üretilen fermentasyonda, organik madde hem elektron alıcısı hem de elektron vericisi olarak kullanılır. Molekülün bir kısmı yükseltgenirken diğer kısmı indirgenir. Oluşacak enerji ürüne bağlı olarak değişir. Örneğin glikozun fermentasyonu (glikoliz) sonucu etanol, asetat, laktat, bütirat veya hidrojen üretilir. Bunlara bağlı olarak üretilen enerji de farklılık gösterecektir. Şekil 2.2'de *Clostridium acetobutylicum* bakterisine ait farklı fermentasyon yolları gösterilmiştir.



Şekil 2.2 *Clostridium acetobutylicum* bakterisinin ATP üretmek ya da NADH rejenerasyonu için farklı fermentasyon yolları [2]

MİKROBİYAL YAKIT HÜCRELERİ

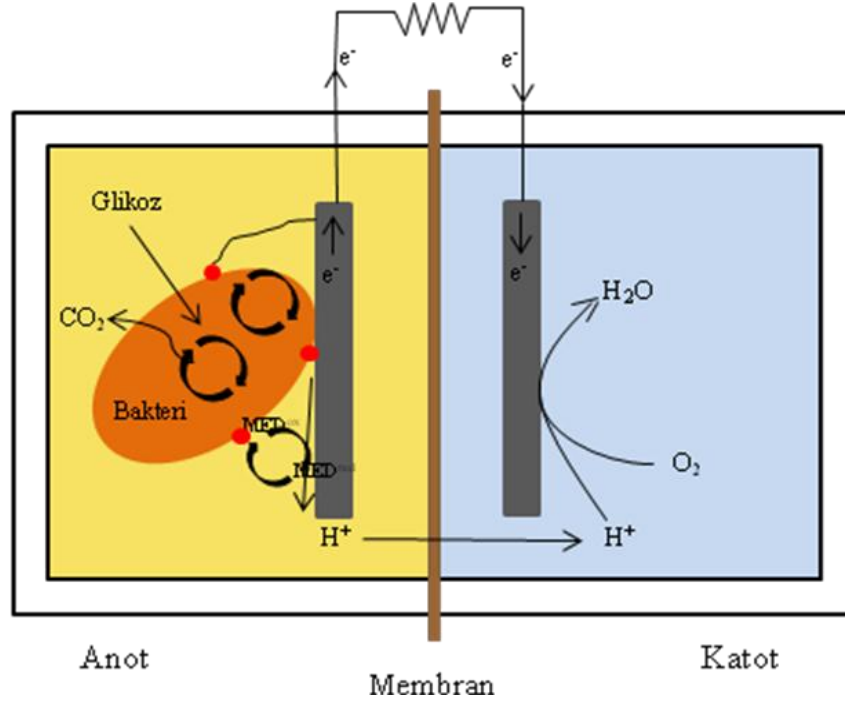
Mikrobiyal yakıt hücresi (MYH) teknolojisi, bakteriler aracılığıyla organik maddeden elektrik enerjisinin üretildiği, gelecek vaat eden bir teknolojidir. MYH'ler, organik bileşiklerdeki kimyasal enerjiyi mikroorganizmaların anaerobik şartlardaki katabolik reaksiyonları aracılığıyla elektrik enerjisine dönüştüren bir biyoelektrokimyasal reaktördür [10]. Bu sistemlerde, organik maddeyi parçalayıp elektron üreten ve bunları hücre dışına transfer eden bakterilere ekzoelektrojen bakteriler denir [11].

Bazı MYH tiplerinde mikroorganizmalar substrattan anodik elektrota elektron transferinde katalizör görevi görür. Bu yüzden yüksek performansa sahip mikrobiyal topluluk seçimi oldukça önemlidir. Karışık kültür kullanarak yapılan MYH işletiminde, farklı bakteri türlerinin varlığından dolayı çok daha karmaşık karbon kaynakları substrat olarak kullanılabilir. MYH çalışmalarında, çoğunlukla elektrokimyasal olarak aktif sedimentten ya da atıksu arıtma tesisinden alınan aktif çamurları zenginleştirilerek kullanılmakta ve bu sistemler için tercih edilmektedir [12].

3.1 Çalışma Prensipleri

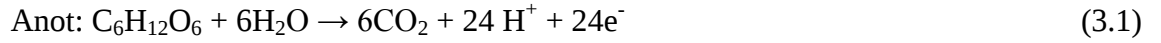
Tipik bir MYH, anot ve katot bölmeleri ile bu iki bölmeyi birbirinden ayıran proton geçiririci membrandan oluşmaktadır. Anot bölgesinde mikroorganizmalar, organik maddenin oksidasyonundan elektron, proton ve nihai ürünler olarak CO₂ ve biyokütle üretirler [6]. Protonlar membran aracılığıyla katot bölmesine geçerken, elektronlar anot elektrotta toplanır ve harici bir direnç üzerinden katot elektrota iletilirler (Şekil 3.1). Katotta bir e⁻ alıcısının (genellikle O₂) varlığı ve membrandan katota geçen pozitif elektrik yüklü H⁺'lar sayesinde, anottaki elektronlar katota doğru çekilir. Burada oksijen ve hidrojenlerin birleşmesi sonucu su oluşur. Katot bölgesindeki H⁺'lar tüketilerek yoğunluğu düşürüldüğü için, anot bölgesinden katot bölmesine H⁺ geçişinin sürekliliği

sağlanmış olur. Katot üzerindeki elektronlar oksijene aktarıldığı için, katodun pozitif yüklü olması sağlanarak, anottan katoda elektron akışının sürekliliği sağlanır. Bu durumda devreye bir direnç takılarak (lambda, fan gibi) üretilen elektrik enerjisi kullanılabilir. Elektrik enerjisi üretebilmek için, anot bölgesinde oksijen veya başka bir elektron alıcısı bulunmamalıdır. Tek elektron alıcısı olarak anodun bulunması gerekmektedir. Dolayısıyla, anot bölgesi tamamen anaerobiktir.

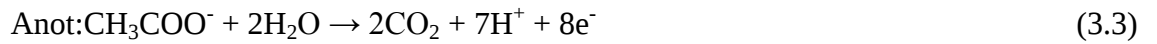


Şekil 3.1 Basit bir MYH yapısı [13]

Mikrobiyal yakıt hücresine glikoz beslendiği durumda gerçekleşecek olan temel reaksiyonlar şöyledir:



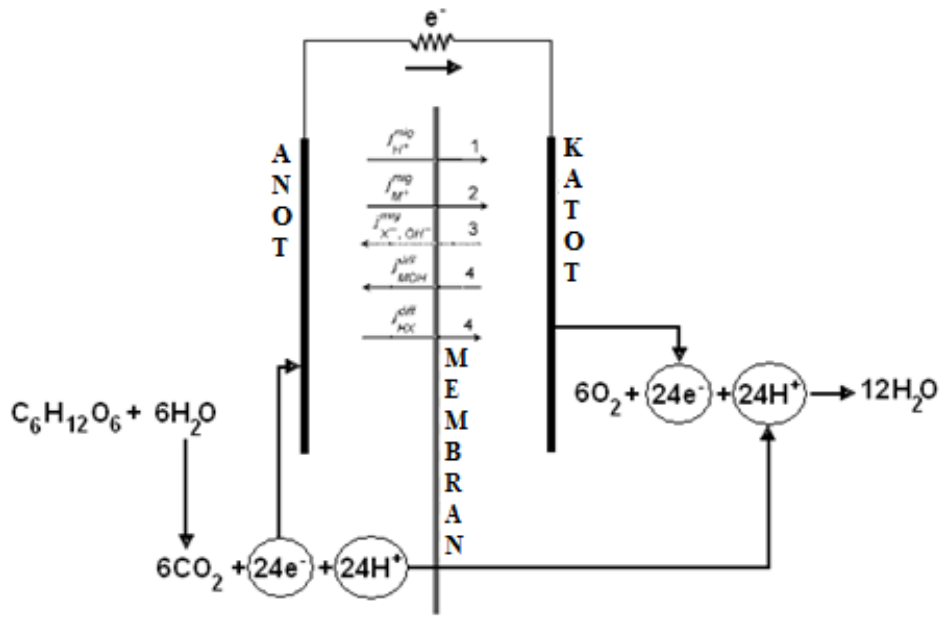
Asetat için benzer reaksiyonlar ise şöyledir:



Susbrat karbondioksit ve suya dönüşürken aynı zamanda elektrik enerjisi de üretilmektedir.

Şekil 3.2’de görüldüğü gibi, organik madde (glikoz), anot bölgesinde parçalanır ve elektronlar elektrik enerjisi üretmek için katot bölgesine transfer edilir. Anot bölgesi anaerobik şartlarda işletilir ve organik madde anaerobik parçalanmaya maruz kalır. Dolayısıyla ortamdaki elektronlar oksijen gibi elektron alıcıları tarafından tüketilmezler.

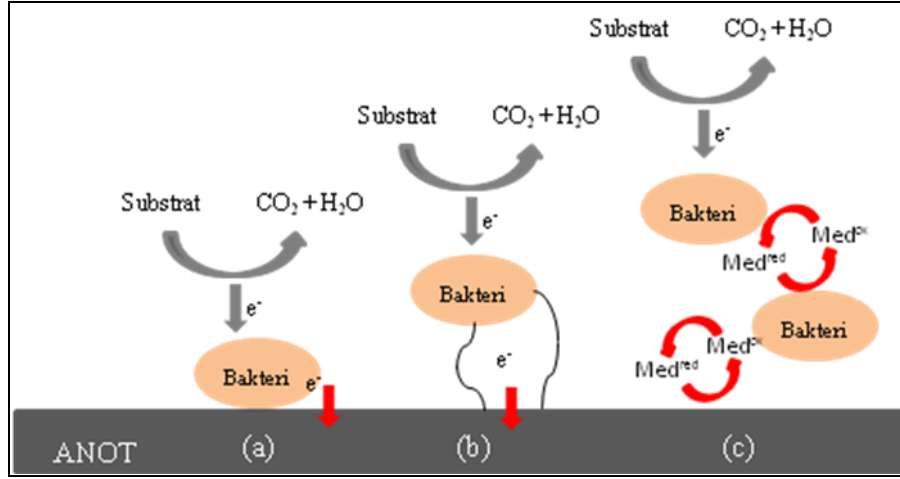
Anotta üretilen protonların (H^+) konsantrasyonu arttıkça katot bölgesine iyon geçiren membrane vasıtasıyla difüzyon yoluyla geçerek bu bölmedek O_2 ’nin veya tercih edilen bir başka oksidanın anotta üretilen elektronlarla birleşmesi sonucu su oluşur. Böylece devre tamamlanır ve sistemden doğrudan elektrik üretimi gerçekleşir. Şekil 3.2’de sistemin mekanizması şematize edilmiştir.



Şekil 3.2 Mikrobiyal yakıt hücrelerinde iyon transferi [14]

3.2 Elektron Transfer Mekanizmaları

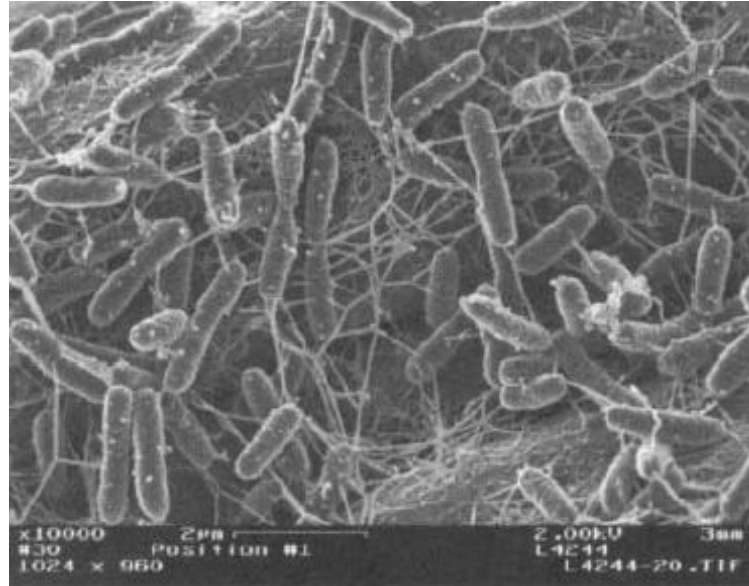
Anot bölgesindeki elektron transfer mekanizması, mikrobiyal yakıt hücrelerinin nasıl çalıştığını anlamak adına önemlidir. MYH’lerde bakterilerden anot elektrota elektron transferi; (1) Bakteriyel pililer ile doğrudan transfer; (2) Hücre yüzeyinden doğrudan transfer ve (3) Medyatorlar ile transfer olmak üzere üç şekilde olmaktadır (Şekil 3.3).



Şekil 3.3 Elektron transfer mekanizmaları (a) Doğrudan transfer (b) Bakteriyel pililer ile doğrudan transfer (c) Medyatörler ile transfer [15]

3.2.1 Bakteriyel Pililer (Nanowire) ile Doğrudan Transfer

Yapılan araştırmalar sonucunda bazı bakterilerin anoda doğru pili denilen kamçımsı yapılarla elektron transfer ettiği bulunmuştur. *Geobacter* ve *Shewanella* türlerinin bakteriyel pili denilen iletken uzantılara sahip oldukları görülmüştür [2]. Şekil 3.4'te *Shewanella oneidensis*'e ait pililerin taramalı tünelleme mikroskopisi ile elde edilen görüntüsü verilmiştir. Reguera ve arkadaşlarının yaptıkları araştırmada ise *Geobacter sulfurreducens* türünün iletken uzantıları olduğu gözlenmiştir [16].



Şekil 3.4 *Shewanella oneidensis* tarafından üretilen pililer [2]

3.2.2 Sitokromlar ile Hücre Yüzeyinden Doğrudan Transfer

Bazı bakteriler elektronları hücre yüzeylerinden anota doğrudan transfer edebilmektedir. Substratın CO₂'e oksitlenmesiyle açığa çıkan elektronlar anot yüzeyine, c-tipi sitokrom gibi taşıyıcı proteinlerle iletilir.

MHY'lerde bu amaçla kullanılan bakterilerden bazıları; *Shewanella*, *Geobacteraceae*, *Geobacter*, *Rhodoferrax*, *G. sulfurreducens* ve *R. ferrireducens* [10, 11]. Bu bakteriler anodofiller olarak da bilinmekte olup, anot yüzeyi üzerinde biyofilm oluşturarak elektronları anota direk aktarabilmektedirler.

Yapılan çalışmalar Fe(III) indirgeyen *Geobacteraceae* ailesinden olan mikroorganizmaların doğrudan elektron transfer ettiklerini göstermiştir [17].

3.2.3 Medyatörler ile Transfer

Elektron taşıyıcı medyatörler (elektron arabulucuları), elektronların anota transferini hızlandırmakta ve dolayısıyla MYH performansını artırmaktadır. Birçok bakterinin yüzeyinde iletken olmayan lipid membran bulunmaktadır. Bu sebeple, elektronların anoda direk olarak transferi engellenmektedir. Bu durumda ortamdaki medyatörler elektronların anoda transferini hızlandırmaktadır. Oksitlenmiş medyatörler, mikroorganizmanın membranından elektronları alarak indirgenirler. Daha sonra anot elektrotta elektronları bırakarak tekrar oksitlenmiş duruma geçerler ve anot sıvısı içinde dağılırlar. Bu döngü, elektron transfer hızını artırarak elektrik üretimini de artırmış olur.

İyi bir medyatör aşağıdaki özelliklere sahip olmalıdır [10];

- Hücre membranından kolayca geçebilmeli,
- Elektron taşıma sisteminden elektronları kolayca alabilmeli,
- Yüksek elektrot reaksiyon hızına sahip olmalı,
- Anot sıvısı içerisinde kolayca çözünabilmeli,
- Mikroorganizmalar için toksik olmamalı ve biyolojik olarak parçalanabilir olmamalı,
- Ucuz olmalıdır.

Bazı mikroorganizmalar (*Pseudomonas aeruginosa*) kendiliğinden medyatör üretirken, *Actinobacillus succinogenes*, *Desulfovibrio desulfuricans*, *E. Coli* ve *Pseudomonas fluorescens* gibi türlerin dışarıdan medyatör ilavesine ihtiyaçları vardır [10].

Çalışmalarda kullanılan medyatörlerden bazıları, nötral kırmızı, metilen mavisi, tionin ve Fe(III)EDTA'dır. Sentetik medyatörlerin toksik etkiye sebep olmaları ve değişken yapıları MYH uygulamalarını sınırlamaktadır.

3.3 Voltaj ve Güç Üretimi

3.3.1 Voltaj Üretimi

Mikrobiyal yakıt hücrelerinde elde edilen maksimum voltaj 0,3 V ile 0,7 V arasındadır. Voltaj, dış direncin ($R_{dış}$) (ya da devre üzerindeki yükün) ve akımın (I) bir fonksiyonudur [2]. Harici rezistans üzerinden geçen voltaj ya da MFC'deki yük multimetre kullanarak ölçülmektedir. Voltaj ölçümleri Ohm kanunu kullanılarak akım değerlerine dönüştürülür:

$$V = IR \quad (3.5)$$

Burada, V: Voltaj, V, I: Akım, A, R: Direnç, Ω ' dur.

MYH tarafından üretilen voltaj, ana redoks reaksiyonunun Gibbs serbest entalpisinden anlaşılabilir. Bakteriyel metabolik aktivitelerin ortak ara ürünü olan asetatın parçalanmasına ait reaksiyonlar şöyledir:

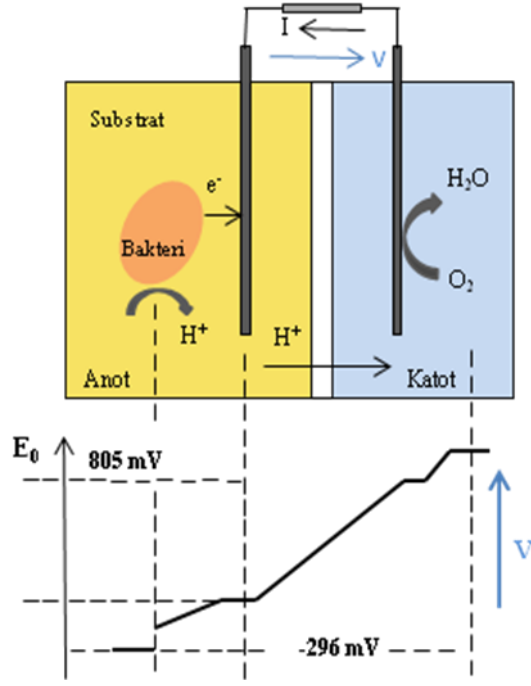
Anotta (asetat oksidasyonu, pH=7):



Katotta (oksijen varlığında, pH= 7):



Bu durumda teorik elektro motor kuvveti 1,1V iken, pratikte elde edilen değer her zaman bu değer in altındadır. Kayıplar, bakteri metabolizması ve biyofilm yapısına bağlıdır. (Şekil 3.5). MYH'lerdeki gerçek voltaj değeri çoğunlukla 0,6 V ile 0,8 V arasındadır [18].



Şekil 3.5 MYH’de redoks ile voltaj birikimi arasındaki ilişki [18]

3.3.2 Güç Üretimi

MYH’de üretilen güç aşağıdaki gibi hesaplanmaktadır [19]:

$$P = I V \quad (3.8)$$

Burada, I: Akım, A, V: Voltaj, V, P: Güç, W’ tır.

Güç yoğunluğu, anot elektrot yüzey alanı ya da anot bölmesinin hacmi ile üretilen güç arasında ilişki kurmak için kullanılır. Anot elektrot yüzey alanına bağlı olarak güç yoğunluğu;

$$P_{DA} = IV/A_A \quad (3.9)$$

Burada, P_{DA} : Elektrot alanına bağlı güç yoğunluğu, W/m^2 , A_A : Anot elektrot yüzey alanı, m^2 ’dir.

Toplam ya da net anot bölmesinin hacmine bağlı olarak güç yoğunluğu;

$$P_{DV} = IV/v \quad (3.10)$$

Burada, P_{DV} : Anot hacmine bağlı güç yoğunluğu, W/m^3 , v : Anot bölmesinin hacmi, L ya da m^3 ’tür.

3.3.3 Enerji

Mikrobiyal yakıt hücre teknolojisi,. organik bileşiklerin bağlarındaki depolanmış enerjiyi mikroorganizmaların aktiviteleri sonucu elektrik enejisine dönüştüren alternatif bir yaklaşımdır. Logan [2], bir örnekle, evsel atıksu kullanılan 100000 kişilik bir kasabanın maksimum enerji geri dönüşümünün faydalı enerji potansiyelini hesaplamıştır:

(a) 500 L/ kişi.gün, 300 mgKOİ/L ve 14.7 kJ/ gKOİ kabulleri için (Shizas ve Bagley, 2004) maksimum enerji üretimini hesaplayınız.

(b) 0.44 \$/ kW.sa için elektrik değeri ne kadardır?

(c) 1.5 kW/ ev kabul edildiğinde bu güç kaç haneye verilebilir?

Çözüm:

(a) Verilen kabullerle basit birim çevriminden güç megawatt (MW) olarak hesaplanabilir.

$$P = \left(300 \frac{\text{mgKOİ}}{\text{L}} \right) \left(\frac{500\text{L}}{\text{gün. kişi}} \right) (10^5 \text{kişi}) \frac{\text{g}}{10^3 \text{mg}} \frac{14,7\text{kJ}}{\text{g. KOİ}} \frac{1\text{kWsa}}{3600\text{kJ}} \frac{1\text{gün}}{24 \text{sa}} \frac{\text{MW}}{10^3 \text{kW}}$$

$$P = 2,6\text{MW}$$

(b) Yukarıdaki sonuç sürekli güç üretimi içindir, böylece kW.sa'e çevrilir ve verilen elektrik bedeli kullanılarak bu güç değeri şöyle hesaplanabilir:

$$= (2,6\text{MW}) \left(\frac{0,44\$}{\text{kW. sa}} \right) \frac{10^3 \text{kW. sa}}{\text{MW}} \frac{24.365 \text{sa}}{\text{yıl}} = 10 \times 10^6 \$/\text{yıl}$$

Böylece US genelinde elektrik değeri çeşitli değişimler göstermesine rağmen, gücün yıllık 10 milyon \$ kadar bir değer olduğu hesaplanabildiği görülmektedir.

(c) Bu gücün hizmet vereceği ev sayısı (h), üretilen gücün ev başına ihtiyaç duyulan elektriğin oranıdır veya;

$$h = (2,6\text{MW}) \left(\frac{\text{ev}}{1,5\text{kW}} \right) \frac{10^3 \text{kW}}{\text{MW}} = 1700 \text{ev}$$

3.4 MYH’lerde Kullanılan Malzemeler

MYH’lerde kullanılan malzemelerin seçiminde dikkat edilmesi gereken önemli hususlar; güç üretimini ve kolombik verimi artıracak, düşük maliyetli, kolaylıkla ölçeklenebilen malzemeyi belirlemektir [2]. Yakıt hücrelerinde anot, katot ve membran olmak üzere üç temel bileşen vardır.

3.4.1 Anot Malzemeleri

Anot malzemesinin çok iyi derecede iletken, korozyon olmayan, büyük yüzey alanına ve yüksek gözenek hacmine sahip, tıkanmayan, düşük maliyetli, yapımı kolay ve büyük ölçekli uygulamalarda da kullanılabilir olması gerekir [2]. Bunlara ek olarak bakteri, malzemeye tutunabilmeli ve iyi bir elektrik bağlantısı elde edilebilmelidir. Elektrot malzemesinin bakterinin elektron transferini nasıl etkilediği de bilinmelidir.

Karbon bazlı malzemelerden anot elektrot olarak sıklıkla kullanılan malzemeler, karbon kağıt, karbon kumaş, karbon köpük ve karbon süngerdir. Bu malzemeler yüksek iletkenliğe sahiptirler ve bakteri gelişimi için de uygun bulunmuştur [2]. Karbon kağıt hafif kırılabilir bir malzemedir fakat bağlantısı kolaydır. Bakır da iletken bir malzemedir ancak zamanla toksik etki yapacağından tercih edilmemelidir [18]. Bunların dışında grafit çubuk, grafit keçe, grafit plaka, grafit levha, grafit granül, grafit fiber ve grafit fırça, metal ve metal kaplama malzemeler olarak sıralanabilir [2].

Anodun malzemesi ve yapısı, mikrobiyal gelişimi ve elektron transferini etkilemektedir. Anot olarak kullanılan malzeme, iyi bir elektriksel iletkenliğin yanında, kimyasal olarak stabil, mikroorganizma ile uyumlu ve ucuz olmalıdır. Anot malzemesi olarak paslanmaz çelik uygun olabilir [18]. Çalışmalarda anot malzemesi olarak sıklıkla karbon kullanılmıştır [22]. Plaka, çubuk ya da granül olarak kullanılabileceği gibi lifli (fibrous) malzeme olarak keçe, kumaş, kağıt, köpük şeklinde de kullanılabilir. Grafit yaygın olarak kullanılan anot malzemedir [23].

Karbon bazlı malzemeler, yüksek elektrik iletkenliğine, büyük yüzey alanına sahip olması ve mikrobiyal ortamdaki kararlılığından dolayı sıklıkla kullanılmaktadır. Bazı durumlarda MYH’de güç üretimini artırmak için karbon bazlı anotlar, metal ya da metal oksitleriyle değişiklik yapılarak kullanılmaktadır [3].

Chaudhuri ve Lovley [24], iki bölmeli MYH’de yaptıkları çalışmada anot elektrot olarak grafit çubuk, grafit keçe ve grafit köpük kullanarak, bu üç malzeme ile elde

edilen akım yoğunluklarını karşılaştırmışlardır. Grafit keçe ile elde edilen akımın grafit çubuk ile elde edilene göre üç kat daha fazla olduğu görülmüştür. Söz konusu çalışmada, bu farkın, malzemeden değil yüzey alanından kaynaklandığı vurgulanmıştır.

Grafit granüller anot malzemesi olarak ilk kez Rabaey vd. (2005) tarafından kullanılmıştır [2]. Bazı çalışmalarda ise yatak dolgu malzemesi olarak da anot ve katotta kullanılmıştır [25; 26].

3.4.2 Katot Malzemeleri

Katot malzemesi, MYH'lerde güç üretimini sınırlayan ve performansı büyük ölçüde etkileyen bir diğer faktördür. Çalışmalarda reaktör ve atıksu tipine göre farklı katot malzemeler kullanılmıştır. Genellikle grafit bazlı malzemeler kullanılmakla birlikte anot elektrot olarak kullanılan malzemeler, katot elektrot olarak da kullanılabilir [10].

İki bölmeli MYH'lerde katot çözeltisi olarak çeşitli elektron alıcıları kullanılmıştır. Katot bölmesinde elektron alıcısı olarak genellikle O_2 kullanılmaktadır. Bunun dışında ferrisiyanür de çalışmalarda sıklıkla kullanılan elektron alıcısıdır. Ferrisiyanür ve permanganat gibi kimyasallar uzun süreli işletmeler için sürdürülebilir ve pratik olmamalarına rağmen kullanılmaktadır. Elektron alıcısı olarak oksijen kullanılması, yüksek termodinamik redoks potansiyeline sahip olması, sürdürebilir işletimi ve temin edilebilirliğinin kolay olması açısından avantajlıdır. Bununla birlikte metal katalizör kullanılmadıkça yüksek katodik potansiyele sahip olunması zordur. Çok düşük yükleme oranlarında dahi platin, oksijenin indirgenmesini hızlandırır. Katot olarak karbon kumaşın kullanıldığı bazı çalışmalarda elektrot Pt kaplanmış [12, 27]. Yapılan çalışmalarda platinden daha ucuz, demir (II) ftalosiyanın gibi metaller de katalizör olarak kullanılmıştır [28].

Bakteri zenginleştirmesine bağlı olan biyokatotlar geliştirilmektedir. Biyokatot, gelecek vaad eden, sorunsuz bir katot reaksiyonunu geliştirme yöntemidir. Bu sistem MYH'lerde medyatör ya da katalizörler olmadan katot performansını artırmak için uygulanabilir. Biyokatodun bir uygulamasında nitratı elektron alıcı olarak kullanarak 10 W/m^3 çıkış elde etmişlerdir [29]. Asetatın okside edildiği tüp şeklindeki MYH'nin anodu, elektrik üretimi için açık hava biyokatodu ile birlikte kullanıldığında maksimum enerji üretimi kesikli ve sürekli sistemler için sırasıyla 83 ve 65 W/m^3 olarak

bulunmuştur [30]. Buna rağmen biyokatotla ilgili sınırlı bilgi mevcuttur ve şu ana kadar biyokatotla ilgili mekanizma ve mikrobiyal içerikle ilgili çalışma yapılmamıştır [31].

Deng vd. [28] yaptıkları çalışmada, aktif karbon fiber keçe, düz karbon kağıt, karbon keçe ve platin kaplanmış karbon kağıt şeklinde dört farklı katot malzemesi kullanarak yukarı akışlı MYH’de güç üretimini incelemişlerdir. Çalışmanın sonunda aktif karbon fiber keçe ile yapılan testlerde maksimum güç yoğunluğu 315 mW/m^2 elde edilmiştir. Diğer üç elektrotta bu değerler oldukça düşük olup, karbon kağıt için 67 mW/m^2 , karbon keçe için 77 mW/m^2 ve platin kaplanmış karbon kağıt için 124 mW/m^2 ’dir. Çalışmada ayrıca aktif karbon fiber keçe elektrot platin ile kaplanarak da güç üretimine etkisi incelenmiştir. %24 artırarak 392 mW/m^2 ’ye yükseltmiştir.

Oh ve Logan [32], çalışmalarında katotta ferrisiyanür, Pt karbon katot ve oksijen gibi üç farklı elektron alıcısının MYH’de güç yoğunluğuna etkisini incelemişlerdir. Bu çalışmada, ferrisiyanürün güç üretimini Pt-katalizör ve O_2 ’den 1,5 – 1,8 kat daha fazla artırdığı görülmüştür.

3.4.3 Membran

Membran, iki bölmeli MYH’lerde anot ile katot bölmelerini ayıran ve anottan katota proton transferini sağlayan malzemedir. Membranın diğer bir özelliği de katottan anota oksijen difüzyonunu ve katot çözeltisindeki diğer katyonların anoda geçişini engellemesidir.

Ayırıcının olmaması durumunda oksijen ve substrat difüzyonu artmakta ve böylece kolombik verim ve anot mikroorganizmalarının biyoelektrokatalitik aktiviteleri düşmektedir [33].

Membranların dezavantajları yüksek maliyetli olmaları (Nafion 117 $1400 \text{ \$/m}^2$, CMI-7000 $80\text{\$/m}^2$; Membranes International, Inc.) ve sistem performansını düşürmeleridir [2]. Maliyetin yüksek olması büyük ölçekli uygulamalar için malzemenin kullanımını sınırlandırır. Substrat difüzyonunun artması membran yüzeyinin tıkanmasına sebep olur.

Membrandaki proton transfer hızının düşük olması anot ve katottaki reaksiyon hızını etkilemektedir. Protonların anotta birikmesi ise mikrobiyal aktiviteyi durdurur [3]. Elektrotların arasındaki ayırıcı, genellikle katyon değiştirici membranlar, anyon değiştirici membranlar ve ultrafiltrasyon membranlardır [28]. Literatüre bakıldığında

sıklıkla kullanılan katyon değiştirici membranların Nafion 117 ve Ultrex CMI-7000 olduğu görülmektedir [12, 22, 25, 33, 34, 35, 36].

Nafion 117 (117, membranın kalınlığını ifade eden kod), MYH’lerde en sık kullanılanı membrandır [2]. Nafion, proton değiştirici membran olarak da adlandırılabilir. Bu membran perfloras lfonatlı polimerik membrandır. Eksi yüklü sülfonat gruplarının varlığından dolayı çeşitli katyonlara yüksek iletkenlik gösterir.

MYH’de protonlar ile diğer katyonların membrandan geçiş için rekabet halinde olmaları da performansı etkilemektedir. Anotta üretilen protonlar yeterli hızda katota ge emezlerse, anotta pH düşecek, katotta ise artacaktır. Anotta pH’nın düşmesi bakteri faaliyetini ve dolayısıyla akım üretimini etkileyecektir. Katotta artması ise protonların (H^+) kütle transfer hızını olumsuz yönde etkileyerek MYH sisteminde katot bölmesine proton taşınımının sınırlandırılmasına yol açacaktır. Katot bölmesindeki pH değişimi tampon çözelti kullanılarak dengeye getirilebilir. Ancak bu durumun g   üretimine etkisi olabilen biyofilmdeki pH değişimlerini ne derece etkileyeceği hususu net değildir [2].

CMI-7000, MYH’lerde kullanılan diğer bir katyon değiştirici membrandır. Çapraz bağlı yapısıyla jel polistiren ve divinilbenzenli güçlü asit polimer membrandır. Nafion 117 membranı 0,019cm kalınlığında; CMI-7000 membranı ise 0,046cm kalınlığındadır. CMI-7000 membranı Nafion 117’ye göre biraz daha kalın, daha sert ve düşük maliyetlidir [2]. CMI-7000 membranı, Nafion membrana karşı kıyaslanabilir bir katyon iletkenliğine ve dayanıklılığa sahiptir [33].

 ki membranla da birçok çalışma yapılmasına rağmen membranın, güç yoğunluğu ya da kolombik verim açısından MYH performansını nasıl etkilediği halen iyi anlaşılamamıştır [37]. Membransız MYH’lerde katot elektrotlar bakteri ve substrat tarafından kolayca kirletilmektedir. Katot yüzeyindeki ince bir biyofilm tabakası MYH performansını bozabilir [13].  ki membranın teknik özellikleri ayrıntılı olarak  izelge 3.1’de verilmiştir.

Liu ve Logan [21], çalışmalarında proton değiştirici membran varlığında ve yokluğunda, tek bölmeli hava katot MYH’nin performansını karşılaştırmışlardır. Membran varlığında elde ettikleri güç yoğunluğu 262 mW/m^2 iken, membransız durumda bu değer 494 mW/m^2 ’ye yükselmiştir.

Yapılan bir diğ er çalışmada da membranların işletme problemleri araştırılmıştır [39]. Buna g ore bazı katyon türlerinin, Nafion'dan protonlara g ore 10^5 kat fazla oranla geçtiğini ve bunun sonucunda katot bölmesinde bu katyonların biriktiği görülmüştür. Katot reaksiyonunda protonlar t k tilirken, katyon türlerinin varlığı katot bölmesinin pH'sını yükseltmektedir. Bu da MYH performansının düşmesine sebep olmaktadır.

Çizelge 3.1 İki farklı proton değiştirici membranın teknik özellikleri

�zellikler	CMI-7000 ^a	Nafion 117 ^a
İşlevsellik	Kuvvetli asit CEM	Kuvvetli asit
Polimer yapısı	Jel polistiren	Florokarbon vinil eter polimer
Fonksiyonel grup	Sülfonik asit	Sülfonik asit
İyonik form	Sodyum	Sodyum
Standart kalınlık, mm	0.45±0.025	0.183
Toplam katyon değiştirme kapasitesi (meq/g)	1.6±0.1	0.95-1.01
Isıl kararlılığı (�C)	90	190
Çalışma pH'sı	1-10	1-8
Ohmik rezistans (Ω cm ²) 0.5M NaCl	<30	15 ^b

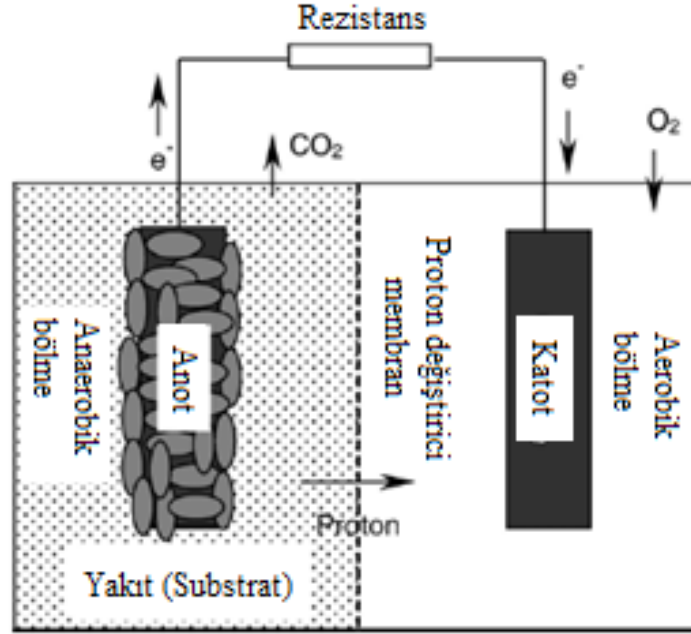
a: Ultrex, Membrane International Inc., b: Ref.: [38]

3.5 MYH Tipleri

Literatürde farklı tipte MYH reaktörleri ile yapılan çalışmalar mevcuttur [11, 25, 27, 28]. Bunlar; iki bölmeli MYH, tek bölmeli MYH, boru şeklinde tek bölmeli MYH, birden çok reaktörden oluşan perdeli MYH olarak sıralanabilir. Sıklıkla kullanılanları ise iki bölmeli H tipi ve tek bölmeli hava katot MYH reaktörleridir [36].

3.5.1 İki Bölmeli MYH

İki bölmeli MYH, anot bölgesi, katot bölgesi ve bu iki bölmeyi birbirinden ayıran proton değişirici membrandan oluşmaktadır (Şekil 3.6). Anot bölgesinde organik madde anaerobik şartlarda okside olurken, oluşan elektronlar anottan harici bir dirence geçmektedir. Membrandan geçerek katot bölgesine geçen protonlar, katot bölgesindeki oksijen ile birleşerek su oluştururlar.



Şekil 3.6 İki bölmeli MYH [10]

İki bölmeli MYH'lerde dikkat edilecek nokta, seçilen membranın protonun geçişine izin verip, substratın ve katottaki elektron alıcısının (genellikle O_2) geçişine izin vermemesidir [23]. İki bölmeli MYH'nin en önemli dezavantajı ise katot bölgesinin sürekli havalandırılması esnasında O_2 'nin anot bölgesine geçme riskinin olmasıdır [21].

H-tipi sistemler, farklı malzemeler kullanarak güç üretiminin ya da mikrobiyal türlerin araştırılması için uygundur, fakat genellikle düşük güç yoğunlukları elde edilir. Bu sistemlerde üretilen güç miktarı anot, katot ve membranın birbiriyle temas ettiği yüzey alanlarından etkilenmektedir [23]. İki bölmeli MYH'lerde güç yoğunluğunu artırmak için yapılan işlemlerden Bölüm 3.6'da detaylı olarak bahsedilmiştir.

İki bölmeli MYH'de asetat, glikoz ve ksilozdan elektrik üretiminin araştırıldığı bir başka çalışmada Thygesen, vd. [40] tarafından gerçekleştirilmiştir. Çalışmada medyatör olarak hümitik asit kullanılmıştır. Medyatör kullanılmaksızın asetat ile maksimum voltaj

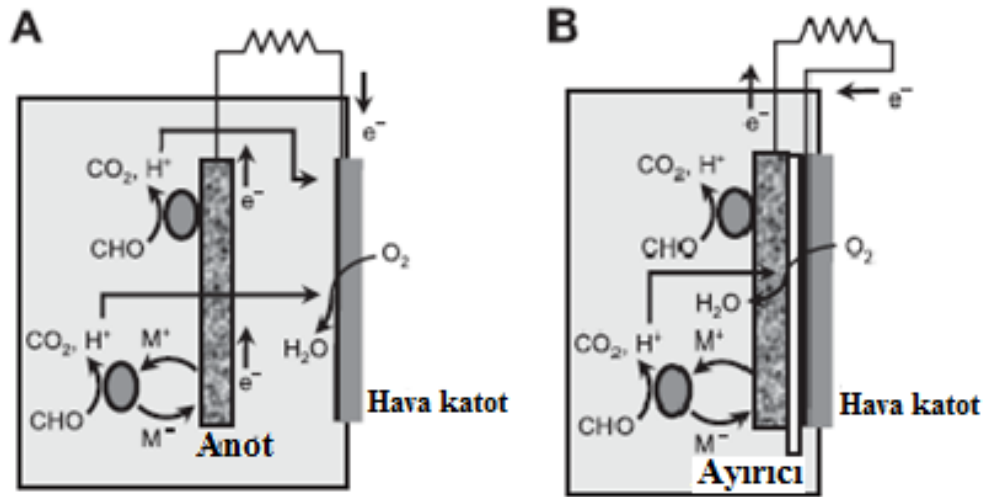
(570 mV, 1000 Ω) ve maksimum güç yoğunluğu (123 mW/m²) elde edilmiştir. Glikoz için güç yoğunluğu ise 28 mW/m² ve voltaj 380 mV, ksiloz için güç yoğunluğu 32 mW/m² ve voltaj 414 mV olarak kaydedilmiştir. Medyatör olarak hümik asit kullanılması (2 g/L), güç yoğunluğunu glikoz için %84, ksiloz için %30 artırmıştır.

3.5.2 Tek Bölmeli MYH

Tek bölmeli MYH ile yapılan ilk çalışma 1989 yılında Sell vd. tarafından yayınlanmıştır [2]. İki bölmeli MYH’lerdeki yüksek hacim ve havalandırma için fazladan maliyet gibi zayıflıkları artırmak adına, katot bölmelerini çıkararak daha basit ve daha verimli tek bölmeli MYH’ler geliştirilmiştir [22].

Tek bölmeli hava katot MYH’lerde katot bölmesi yoktur. Katot elektrot doğrudan hava ile temas halindedir. Üretilen protonlar anot çözeltisinden gözenekli hava katota geçerler [10]. Reaktörün basit bir tasarımı vardır ve katot bölmesi olmadığından havalandırma için ilave maliyet gerekmez.

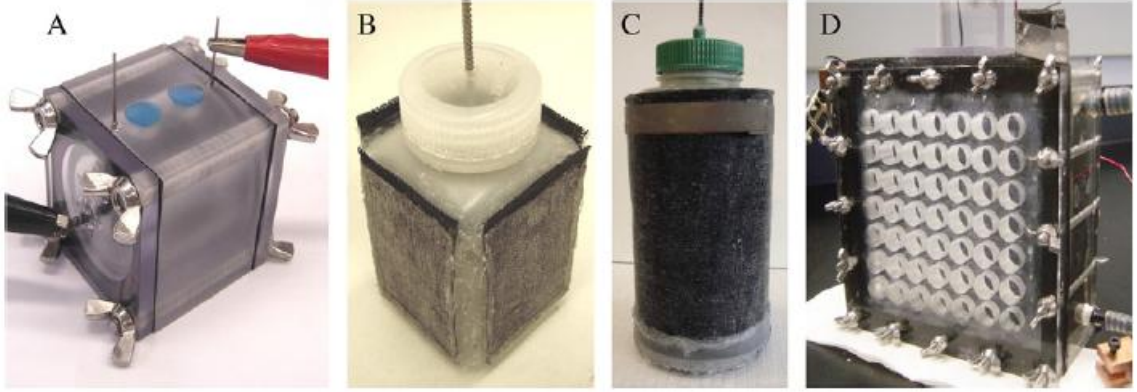
Tek bölmeli MYH’lerde anot elektrot, membrana bitişik ya da membrandan ayrı olacak şekilde farklı reaktör tasarımları mevcuttur (Şekil 3.7).



Şekil 3.7 Tek bölmeli MYH reaktörleri (A) Tek bölmeli hava katot reaktör, elektrotlar ayrı (B) Tek bölmeli hava katot reaktör, elektrotlar membrana bitişik [3]. M, Medyatör; CHO, organikler.

Tek bölmeli MYH’lerde membran katota su sızmasını engeller ve anot bölmesine oksijen difüzyonunu azaltır. Anot bölgesindeki bakterinin oksijen tüketimi, düşük kolombik verime sebep olur [23].

Çalışmalarda kullanılan farklı hacimlerdeki tek bölmeli MYH tipleri Şekil 3.8’de görülmektedir.



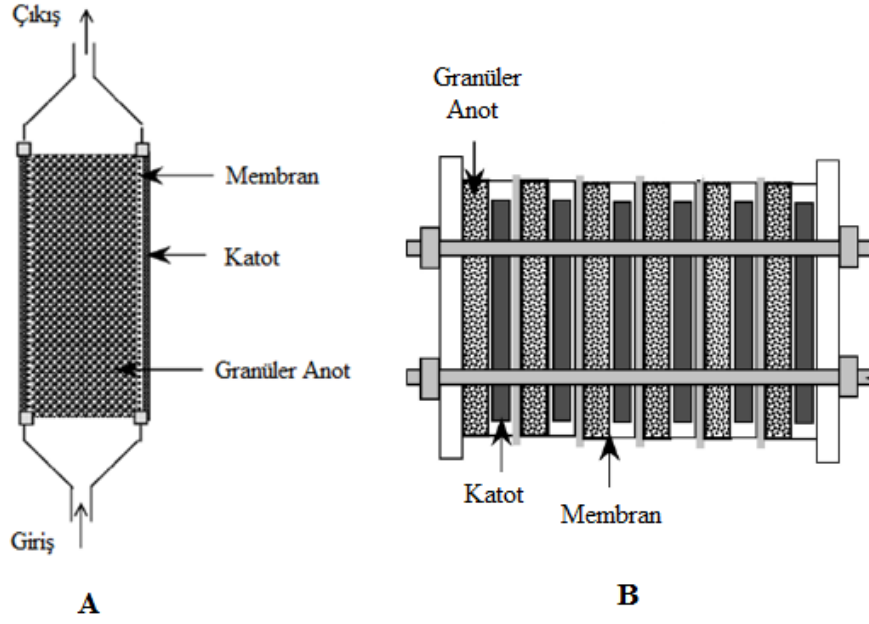
Şekil 3.8 Farklı hacimlerdeki tek bölmeli MYH’ler. (A)28 mL (B)250 mL (C)1 L (D)1,6 L [41]

Min vd. [42], yaptıkları çalışmada tek bölmeli ve iki bölmeli MYH’de domuz kesimhanesi atıksularından elektrik enerjisi üretimini incelemişlerdir. Buna göre tek ve iki bölmeli reaktörlerde üretilen maksimum güç yoğunlukları sırasıyla 261 mW/m^2 ve 45 mW/m^2 ’dir.

3.5.3 Diğer MYH Çeşitleri

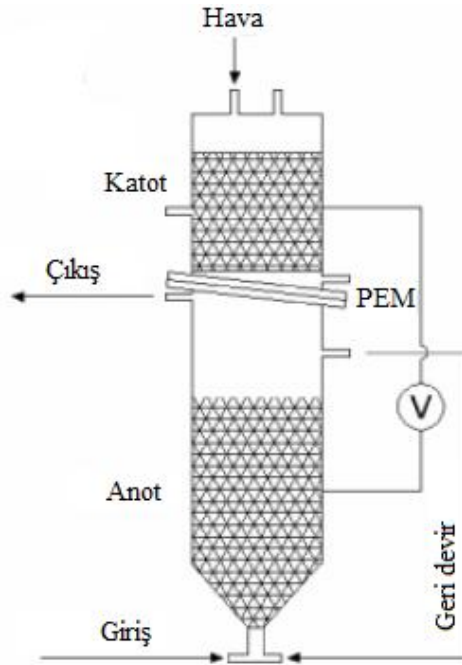
Literatürde iki bölmeli ve tek bölmeli MYH dışında farklı tip reaktörlerle de çalışmalar yapılmıştır. Rabaey vd. [35] tarafından tasarlanan dış kısmında katot iç kısmında ise anot bölmesinin yer aldığı tüp şeklindeki reaktörün şematik görünümü Şekil 3.9A’da verilmiştir. Çalışmada substrat olarak asetat, glikoz ve hastane atıksuyu kullanıldığında elde edilen maksimum güç yoğunlukları sırasıyla 90 W/m^3 , 66 W/m^3 ve 48 W/m^3 olarak kaydedilmiştir.

Aelterman vd. [25] çalışmalarında perdeli MYH kullanmışlardır. Reaktör birbirine bitişik yakıt hücrelerinden oluşmaktadır (Şekil 3.9B). Bu tasarımla hücre potansiyelini artırmak amaçlanmış, çalışmada elde edilen maksimum güç yoğunluğu ise 258 W/m^3 olarak kaydedilmiştir.



Şekil 3.9 (A) Tüp şeklindeki MYH reaktörü, (B) Perdeli MYH reaktörü [10]

He vd. [43], çalışmalarında yukarı akışlı çamur yataklı anaerobik reaktörden (UASB) modifiye edilen yukarı akışlı MYH reaktörü kullanmışlardır. Çalışmada elde edilen maksimum güç yoğunluğu 170 mW/m^2 'dir. Çalışmada kullanılan reaktörün şematik görünümü ise Şekil 3.10'da verilmiştir.



Şekil 3.10 Yukarı akışlı MYH reaktörü [43]

3.6 MYH’lerde Elektrik Üretimini Etkileyen Faktörler

MYH performansı, düşük potansiyele sahip (glikoz) organik maddeyle yüksek potansiyele sahip (oksijen) nihai elektron alıcısı arasındaki elektrokimyasal reaksiyonlara bağlıdır[10]. MYH performansı, substrat dönüşüm hızından, anot ve katottaki aşırı gerilimden, proton değiştirici membranın performansından ve hücrenin iç direncinden etkilenmektedir.

Substrat, MYH’lerde elektrik üretimini etkileyen en önemli faktörlerdendir. Kullanılan substrata göre sistemde üretilen güç farklılık gösterir [1].

Anot bölmesindeki mikroorganizma türü, MYH tasarımı ve işletme koşulları güç üretimini ve kolombik verimi etkilemektedir [9]. MYH’de kullanılan bakteri çeşitleri de güç yoğunluğu ve kolombik verimi etkilemektedir. Metal indirgeyen bakterilerin varlığında medyatör ya da dış elektron taşınımına gerek kalmaz. Bu bakteriler, *Shewanella*, *Ghodoferax* ve *Geobacteraceae* ailelerindendir [32].

Sıcaklık, MYH performansını etkileyen bir diğer unsurdur. Bununla birlikte sıcaklığın MYH performansına olan etkisine dair yapılan çalışmalar oldukça az olup bunlar gerçek atıksuyla yapılan çalışmalar değildir. Gerçek atıksu ile yapılan çoğu çalışma mezofilik şartlarda gerçekleştirilmiştir [6].

Jadhav ve Ghangrekar, [36] çalışmalarında farklı sıcaklık, pH, dış direnç ve giriş KOİ konsantrasyonları için MYH performansını incelemişlerdir. Düşük işletme sıcaklıklarında, yüksek sıcaklıklara göre daha yüksek akım ve kolombik verim elde edilmiştir. Bununla birlikte KOİ giderim verimi sıcaklığın düşmesiyle düşmüştür. Anot bölmesinin pH’sının 6,5 olduğu durumda MYH’de maksimum akım elde edilmiştir. Anot ve katot bölmeleri arasındaki pH farkının artması MYH’nin iç direncini düşürmüştür. Dış direncin düşük olması KOİ giderim verimini çok az artırmıştır. Düşük sıcaklıklarda da sistemde elektrik üretilmesi, elektrokimyasal olarak aktif bakterilerin düşük sıcaklıkta da aktivitelerini kaybetmediğini gösterir.

Düşük sıcaklığın MYH performansına etkisinin incelendiği diğer bir çalışmada ise sıcaklığın artmasıyla (4°C’den 30°C’ye) güç üretiminin arttığı görülmüştür [27]. Kolombik verim ise sıcaklığın artmasıyla düşmüştür.

Ahn ve Logan [6], çalışmalarında tek bölmeli hava katot MYH ile evsel atıksu kullanarak iki farklı sıcaklıkta (23±3 °C ve 30±1 °C), kesikli ve sürekli akış için MYH

performansını incelemişlerdir. Çalışma sonunda en yüksek güç yoğunluğu 422 mW/m^2 ($12,8 \text{ W/m}^3$) olarak, sürekli işletmede ve mezofilik şartlarda elde edilmiştir. Bu da sıcaklığın MYH'lerde güç üretimine önemli bir etkisinin olduğunu göstermektedir.

Chae vd.,[34] araştırmalarında MYH'lerde kullanılan substrat tipinin anot biofilmdeki mikroorganizma çeşitliliğini ve dolayısıyla elektrik üretim performansını etkilediğini görmüşlerdir. Substrat olarak asetat, glikoz, propiyonat ve bütirat kullanılarak yapılan çalışmada elde edilen güç yoğunlukları, glikoz için 156 mW/m^2 , asetat için $64,3 \text{ mW/m}^2$, propiyonat için 58 mW/m^2 ve bütirat için $51,4 \text{ mW/m}^2$ 'dir.

Thygesen vd. [40] tarafından yapılan bir çalışmada, farklı substrat çeşitlerinin MYH'lerdeki güç üretimine etkisini araştırmak amacıyla asetat, glikoz ve ksiloz kullanılmıştır. Glikoz ve ksilozdan daha basit yapıda olduğundan en yüksek voltaj ve güç yoğunluğu asetat ile elde edilmiştir. Çalışmada medyatörün etkisi de incelenmiştir. Hümik asitin eklenmesiyle, glikoz ve ksilozda güç yoğunluğu artmış fakat asetatta, iç direnç sınırlayıcı bir etkiye sahip olduğundan bu etki belirgin bir şekilde görülmemiştir. Söz konusu çalışmada, hümik asitin güç yoğunluğunu arttırmasına bağlı olarak iyi bir medyatör olduğu kaydedilmiştir.

Anot bölmesinin pH'sı substrat metabolik aktivitesini etkileyen önemli bir faktördür. İki bölmeli MYH ile yapılan bir çalışmada anot bölmesinin pH'sının MYH performansını nasıl etkilediği araştırılmıştır [44]. Bunun için asidik, nötr ve alkali ortamlarda katot çözeltisinde elektron alıcısı olarak hava ve ferrisiyanürün kullanıldığı iki reaktör kurulmuştur. Anot bölmesi asidik iken daha yüksek değerlerde güç üretilmiştir ($65,82 \text{ mW/m}^2$). Bununla birlikte substrat parçalanmasının nötr şartlarda daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Katot çözeltisinde ferrisiyanür olmasının güç üretimine olumlu bir etkisinin olduğu görülmüştür. Ancak atıksu arıtma verimine kayda değer bir etkisinin olmadığı sonucuna varılmıştır.

Oh ve Logan [32], proton değiştirici membranın ve elektrotun yüzey alanının MYH'deki güç üretimine etkisini araştırmışlardır. İki bölmeli MYH'de farklı membran yüzey alanları ve anot, katot boyutları için incelemeler yapmışlardır. Sabit anot ve katot yüzey alanında, güç yoğunluğu membran boyutunun artmasıyla artmış ve maksimum güç yoğunluğu 190 mW/m^2 olarak kaydedilmiştir. Membran yüzey alanının anot ve katot elektrotların alanlarından iki kat daha büyük olduğu durumlarda ise maksimum güç yoğunluğu hemen hemen aynı çıkmıştır ($168 \pm 4,53 \text{ mW/m}^2$). Membran yüzey

alanının, elektrot yüzey alanından küçük olduğu durumlarda ise iç direncin artmasına bağlı olarak, güç yoğunluğunun düştüğü tespit edilmiştir.

İki bölmeli MYH’de yapılan bir çalışmada katot yapısının güç üretimine etkisi incelenmiştir [45]. Katot yüzey alanının artmasıyla güç üretiminin %24 oranında arttığı, alanın azalmasıyla üretimin %56 oranında düştüğü görülmüştür. Katotta Pt kullanılmadığında da güç üretimi önemli oranda (%78) düşmüştür. Elektron alıcısı olarak çözünmüş oksijen yerine ferrisiyanür kullanıldığında ise elde edilen maksimum güç %50-80 oranında artmıştır. Bu durumun, kütle transfer veriminin artmasından ve ferrisiyanürün çözünmüş oksijene göre daha büyük katot potansiyeline sahip olmasından kaynaklandığı vurgulanmıştır.

Cheng ve Logan [41] tarafından yapılan MYH ölçek büyütme çalışmaları esnasında elektrot yüzey alanı ve reaktör geometrisi gibi faktörlerin yanı sıra çözelti şartlarının da önemli olduğunu ve iletkenlik, substrat konsantrasyonu gibi özelliklerin iyi anlaşılması gerektiğine dikkat çekmişlerdir. Substrat konsantrasyonu, anot performansını büyük ölçüde etkilerken katotta aynı oranda etkili olmadığı belirlenmiştir. Benzer şekilde çözeltinin iletkenliği katot performansını etkilerken anotta etkili olmadığı sonucuna varılmıştır. Katot yüzey alanı güç üretimini etkileyen önemli faktörlerdendir. Evsel atıksuyla yapılan çalışmada katot yüzey alanının iki katına çıkarılmasıyla güç üretiminin %62 oranında arttığı, anot yüzey alanının iki katına çıkarılmasıyla ise bu artışın %12 olduğu belirlenmiştir.

BÖLÜM 4

ATIKSU ARITIMINDA MYH

Elektrik üretilen ve aynı zamanda atıksu arıtımının gerçekleştiği mikrobiyal yakıt hücrelerine ilgi giderek artmaktadır. MYH'ler ile laboratuvar ölçekli çok sayıda çalışma yapılmıştır. Çalışmalarda esas alınan nokta, güç yoğunluğunu artırmaktır. Bu çalışmalarda sentetik atıksuların yanı sıra evsel ve endüstriyel atıksular da kullanılmıştır. Karbon kaynağı olarak glikoz, laktat ya da asetatın kullanıldığı sentetik atıksularla elektrik üretimi daha kolay gerçekleşebilir. Ancak MYH'ler gerçek atıksu arıtımı için de büyük bir potansiyele sahiptir. Evsel atıksu, domuz atıksuları, bira endüstrisi atıksuları, nişasta ve gıda işleme atıksuları ile MYH'lerde elektrik üretim çalışmaları yapılmıştır [12, 27, 42, 46, 47].

Liu ve Logan [21] çalışmalarında proton değiştirici membran varlığında ve yokluğunda tek bölmeli hava katot MYH reaktöründe karbon kaynağı olarak glikoz kullanılan sentetik atıksu ve evsel atıksu ile elektrik üretimini incelemişlerdir. Glikoz ile yapılan işletimde elde edilen maksimum güç yoğunluğu $494 \pm 21 \text{ mW/m}^2$ iken evsel atıksu kullanılarak yapılan işletimde bu değer $146 \pm 8 \text{ mW/m}^2$ 'dir.

Bira fabrikasının atıksu arıtma tesisinden alınan atıksu ile yapılan bir çalışmada tek bölmeli hava katot MYH ile elektrik üretimi araştırılmıştır [47]. Çalışma sonunda elde edilen maksimum güç $24,1 \text{ W/m}^3$ 'tür. Çalışmada ayrıca, fosfat tampon çözeltisi ilavesinin ve substrat konsantrasyonun yükselmesinin reaktörün elektrokimyasal performansına ve substrat giderim verimine olumlu etkisinin olduğu görülmüştür.

Lu vd. [21] çalışmalarında tek bölmeli hava katot MYH'de nişasta işleme atıksuyu kullanarak elektrik üretimini araştırmışlardır. Yaklaşık 5000 mg/L KOİ konsantrasyonuna sahip atıksuyun MYH'de substrat olarak kullanılabileceğini ve elektrik üretilebileceğini görmüşlerdir. Elde edilen maksimum voltaj üretimi, akım

yoğunluğu ve güç yoğunlukları sırayla 490,8 mV, 893,3 mA/m² ve 239,4 mW/m²'dir. Bunun yanı sıra KOİ ve amonyak azotu giderim verimleri de sırasıyla %98 ve %90,6 olarak bulunmuştur.

Antonopoulou, vd. [12], iki bölmeli medyatörsüz MYH'de seyreltilmiş peynir altı suyundan elektrik üretimini araştırmışlardır. Glikoz ve laktoz gibi sentetik substratlar MYH karakterizasyonu ve anot bölmesinde mikrobiyal alıştırma için kullanılmıştır. Elde edilen maksimum güç yoğunlukları glikoz ve laktoz için sırasıyla 15,2 mW/m² (kolombik verim %28) ve 17,2 mW/m² (kolombik verim % 22) olarak belirlenmiştir. Seyreltilmiş peynir altı suyu ile elde edilen maksimum güç yoğunluğu 18,4 mW/m² iken buna karşılık gelen akım yoğunluğu 80 mA/m² ve MYH voltajı 0,23 V olarak belirlenmiştir. Elde edilen kolombik verim oldukça düşüktür (%1,9). Bu da peynir altı suyunun bir ön arıtmadan geçmesi gerektiğini gösterir. Çalışma sonunda, peynir altı suyundan güç üretiminin iki bölmeli medyatörsüz MYH ile mümkün olduğu sonucuna varılmıştır.

Chae, vd. [34] tarafından yapılan bir başka çalışmada ise, iki bölmeli dört mikrobiyal yakıt hücresi dört farklı substratla bir yıl süreyle işletilmiş, aşı olarak anaerobik çamur kullanılmıştır. Proton değiştirici membran olarak Nafion 117, anot elektrot karbon keçe (25 cm²), katot elektrot olarak ise 0,5 mg/cm² platin içeren gözenekli titanyum plaka (25 cm²) kullanılmıştır. Atıksulardaki asetat, bütirat, propiyonat ve glikoz farklı konsantrasyonlardadır. Kolombik verim ve güç değerleri substrat tipine göre farklılık gösterirken bakteri çeşitliliği açısından benzer sonuçlar elde edilmiştir. Glikoz beslenen MYH'de 156 mW/m² ile en yüksek güç yoğunluğu elde edilmiştir. Asetat beslenen MYH'de 64,3 mW/m², propiyonatta 58 mW/m² ve bütiratta 51,4 mW/m² güç yoğunluğu elde edilmiştir. Kolombik verim açısından ise en yüksek değer asetat beslenen MYH'de elde edilmiştir (%72,3). Bu değer bütiratta %43, propiyonatta %36 ve glikozda %15'tir. Çalışma kapsamında, reaktörlerdeki bakteri tür dağılımı da incelenmiştir. Anot biofilmlerinde tek başına baskın bir tür görülmemişken, en geniş tür topluluğu glikoz beslenen MYH'de görülmüştür.

Bir başka çalışmada tek bölmeli MYH'de sızıntı suyunun arıtımı ve sızıntı suyundan elektrik üretimi incelenmiştir [46]. Çalışma sonunda 8,5 kg KOİ/m³.gün organik madde giderilmiş ve 344 mW/m³ güç yoğunluğu elde edilmiştir.

Sızıntı suyu ile yapılan diğer bir çalışmada You vd. [48] iki bölmeli ve tek bölmeli MYH'lerin elektrik üretim performansını karşılaştırmışlardır. 30°C'de işletilen tek bölmeli ve iki bölmeli MYH'lerden elde edilen maksimum güç yoğunlukları sırayla 6817,4 mW/m³ ve 2060,19 mW/m³'tür. Bunun yanı sıra tek bölmeli MYH'de %70-98 arasında KOİ giderimi olduğu gözlenmiştir.

Bira fabrikası atıksu ile yapılan bir çalışmada tek bölmeli hava katot MYH ile atıksu arıtımı ve elektrik üretimi araştırılmıştır [49]. Sıcaklığın 30°C'den 20°C'ye düşmesiyle maksimum güç yoğunluğu 205 mW/m²'den 170 mW/m²'ye düşmüştür. KOİ giderimi ve kolombik verimde ise çok az bir değişim gözlenmiştir. Tampon çözeltisinin reaktör performansına büyük etkisi olmuştur. 50 mM fosfat tampon çözeltisinin eklenmesiyle güç üretiminde %136'lık bir artış olmuştur.

BÖLÜM 5

MATERYAL ve METOT

5.1 Bakteriyel Zenginleştirme

Zenginleştirme işleminde kullanılan sentetik atıksuda karbon kaynağı olarak glikoz kullanılmıştır. Besiyerinde anaerobik bakterilerin ihtiyacı olan mineral çözeltiler, vitamin çözeltileri ve mikronütrientler bulunmaktadır. Fosfat tampon çözeltileri olarak $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times 1\text{H}_2\text{O}$ ve Na_2HPO_4 , bikarbonat tampon olarak NaHCO_3 kullanılmıştır. Besiyerinde ayrıca çeşitli vitaminlerden de eser miktarda bulunmaktadır. Bu vitaminler ve besiyerinin içeriğindeki kimyasallar ve konsantrasyonları Çizelge 5.1 ve 5.2’de verilmiştir.

Çizelge 5.1 Sentetik atıksuyun içeriğindeki vitaminler

Vitaminler	
Pyridoxamine ($\text{C}_8\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	Pyridoxine HCl
Nikotinik asit ($\text{C}_6\text{H}_5\text{NO}_2$)	D Biotin
Nikotinamid ($\text{C}_6\text{H}_5\text{N}_2\text{O}$)	Thioktik asit
DL-panthothenik asit	Folik asit
Vitamin B12	Riboflavin
p-aminobenzoik asit	Thiamine HCl

Çizelge 5.2 Sentetik atıksuda kullanılan kimyasallar ve konsantrasyonları

Kimyasal	Konsantrasyon (g/L)	Kimyasal	Konsantrasyon (g/L)
Glikoz	9	H ₃ BO ₃	0,00005
NaH ₂ PO ₄ x 1H ₂ O	9,3	ZnCl ₂	0,00005
Na ₂ HPO ₄	3,195	CuCl ₂ x2H ₂ O	0,00004
NH ₄ Cl	0,6	MnCl ₂ x2H ₂ O	0,00004
KH ₂ PO ₄	0,125	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ x4H ₂ O	0,00005
CaCl ₂ x2H ₂ O	0,11	AlCl ₃	0,00005
MgCl ₂ x6H ₂ O	0,1	CoCl ₂ x6H ₂ O	0,00005
NaHCO ₃	3,92	NiCl ₂ x6H ₂ O	0,00008
FeCl ₂ x4H ₂ O	0,002	EDTA	0,0005

Yukarıdaki çizelgelerde içerikleri verilen stok çözeltiler hazırlandıktan sonra +4°C’de saklanmıştır. Kültür zenginleştirmede kullanılan besiyeri bu stok çözeltilerin seyreltilmesiyle hazırlanmıştır.

5.2 Numuneler

Çalışmada kullanılan kültür örnekleri; Haliç dip çamuru, Denizli’deki Karahayıt Kaplıca’sından alınan sulu çamur ve İstanbul Kemerburgaz Kompost ve Geri Kazanım Tesisi’nden temin edilen komposttur.

Karbon kaynağı olarak glikozun kullanıldığı besiyerine, bu örnekler enjekte edilerek zenginleştirme işlemi gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan besiyerine son olarak maya özütü (4 g/L) ve ortamdaki serbest oksijeni bağlayıcı özelliğinden dolayı sistein HCl (0,5 g/L) eklenerek homojen karışım elde edilmiştir. Anaerobik şartların sağlanması için karışımdan azot gazı geçirilmiştir.

5.3 Elektrotlar

Çalışmada kullanılan reaktörlerin birinde TiO_2 kaplamalı titanyum, diğerinde ise grafit elektrot kullanılmıştır. Elektrotların boyutları aynı olup (10x1 cm) güç üretim performansları karşılaştırılmıştır.

5.3.1 Ti- TiO_2 Elektrot

Titanyum üzerine elektro-aktif kaplama yapmak için araştırma ve geliştirme çalışmaları 1980' li yılların başında başlamış ve çok elementli çeşitli kaplama türleri geliştirilmiştir. Karma Metal Oksit (KMO) kaplı titanyum anotlar oldukça dayanıklıdır. Toprakta, tatlı suda, deniz suyunda ve hatta pH değeri çok düşük olan ortamlarda çalıştığında çok yüksek kimyasal kararlılık gösterirler [50].

Elektro katalitik kaplama tekniği ile titanyum üzerine püskürtülmüş Titanyum oksit, Niobiyum oksit, Rutenyum oksit, Mangan oksit gibi soy metal oksitler (grup 8) metal tuzlarının ısıtılarak ayrışması ile yapılır. Ti- TiO_2 şerit elektrot etrafı karbon dolgu ile çevrelenmiş özel bir elektrottur [50].

Halihazırda katodik koruma için kullanılan Ti- TiO_2 şerit elektrotlar PRO-TEK Müşavirlik Mühendislik'ten temin edilmiş olup, MYH uygulamasında ilk kez bu çalışmada kullanılmıştır.

5.3.2 Grafit Elektrot

Karbon bazlı malzemeler, yüksek elektrik iletkenliğine, büyük yüzey alanına sahip olması ve mikrobiyal ortamdaki kararlılığından dolayı MYH'lerde sıklıkla kullanılmaktadır. Çalışmada da MYH'lerin birinde anot ve katot elektrot olarak grafit elektrot kullanılmıştır.

Grafit elektrotlar Fuel Cell Store'dan temin edilmiştir (www.fuelcellstore.com).

5.4 Membran Özellikleri

Çalışmada her iki reaktörde de proton değiştirici membran olarak CMI-7000 (UltrexTM, Membrane International Inc.) kullanılmıştır. Membranın teknik özellikleri Çizelge 5.3'te verilmiştir.

Çizelge 5.3 CMI-7000 membranına ait teknik özellikler [51]

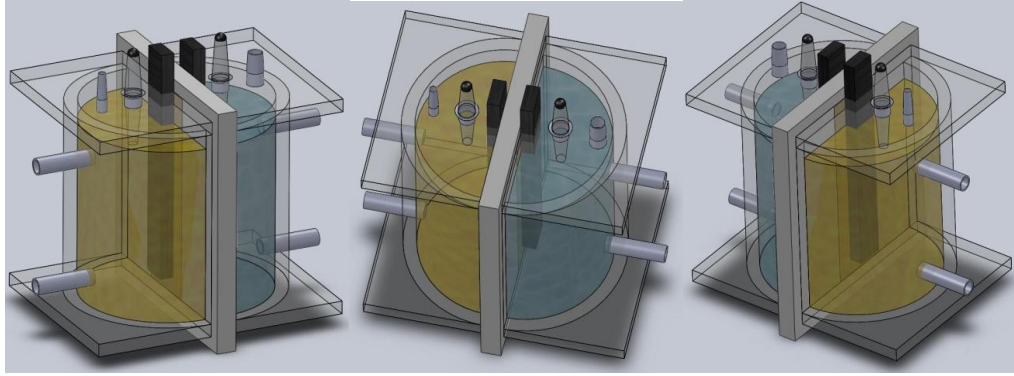
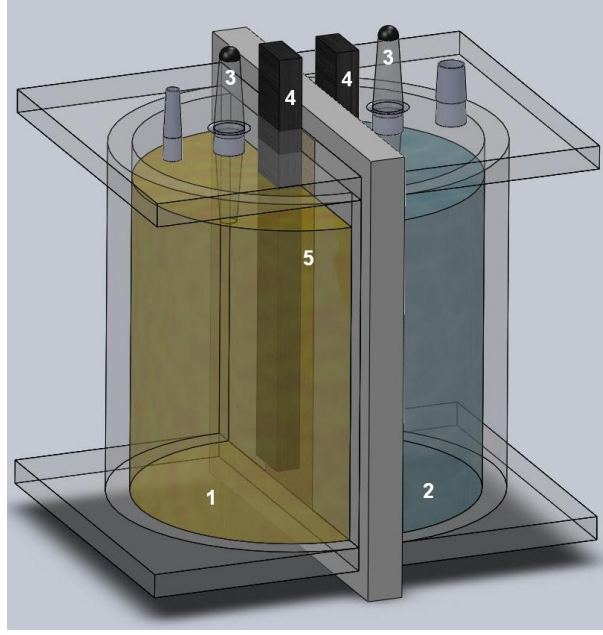
Özellikler	CMI-7000
Polimer yapısı	Jel polistiren
İşlevsel grup	Sülfonik asit
İyonik form	Sodyum
Standart kalınlık, mm	0.45±0.025
Toplam katyon değiştirme kapasitesi (meq/g)	1.6±0.1
Isıl kararlılığı (°C)	90
Çalışma pH'sı	1-10
Ohmik rezistans ($\Omega \text{ cm}^2$) 0.5M NaCl	<30

5.5 MYH Kurulumu ve İşletilmesi

Çalışmada iki adet iki bölmeli MYH kurulmuştur. Reaktörlerin anot ve katot bölmesi proton değiştirici membran ile birbirinden ayrılmıştır. MYH'ler pleksiglas malzemeden yapılmış olup reaktörün yüksekliği 12 cm ve çapı 6,4 cm'dir. Farklı sıcaklıklarda da çalışabilmek amacıyla su ceketı mevcuttur. Reaktörün bir bölmesinin efektif çalışma hacmi 300 mL olup, iki bölmesine de numune alma deliği yerleştirilmiştir. Anot bölmesinde homojen karışımı sağlamak amacıyla manyetik karıştırıcı kullanılmıştır. Katot bölmesinde aerobik şartlar, havalandırma pompası ile sürekli hava verilerek sağlanmıştır. Elektrotların potansiyellerini belirlemek için reaktörlerin her iki bölmesine de Ag/AgCl referans elektrotlar yerleştirilmiştir. Çalışmada kullanılmış olan mikrobiyal yakıt hücresinin şematik görünümü Şekil 5.1'de verilmiştir.

Bu modele sandviç modeli de denmektedir. Modelde elektrotlar arası mesafenin minimum düzeyde olması, düşük ohmik dirençle çalışma imkanı vermektedir [33].

Şekil 5.2'de laboratuvar ölçekli MYH'lerin genel görünimleri verilmiştir

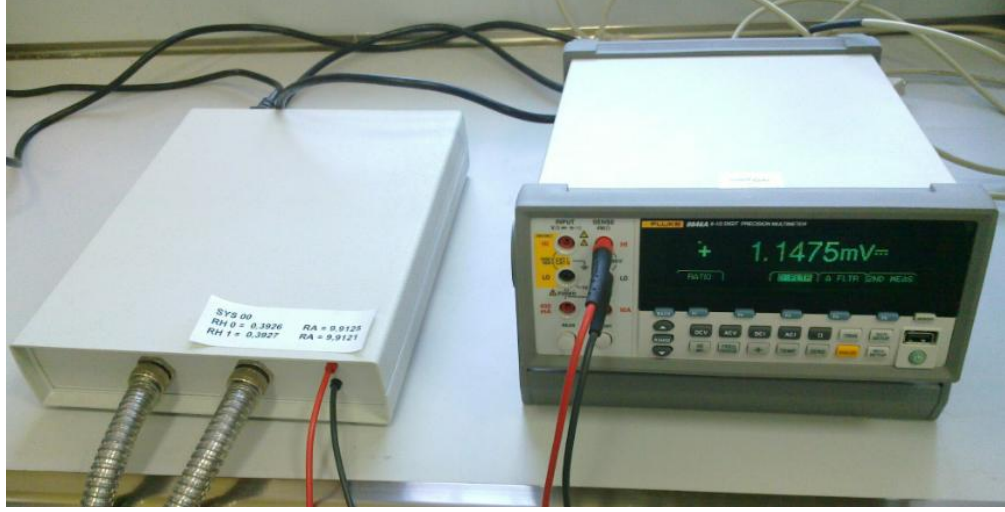


Şekil 5.1 MYH sistemi (1: Anot bölgesi, 2: Katot bölgesi, 3: Referans elektrot, 4: Anot ve katot elektrotlar, 5: Membran)

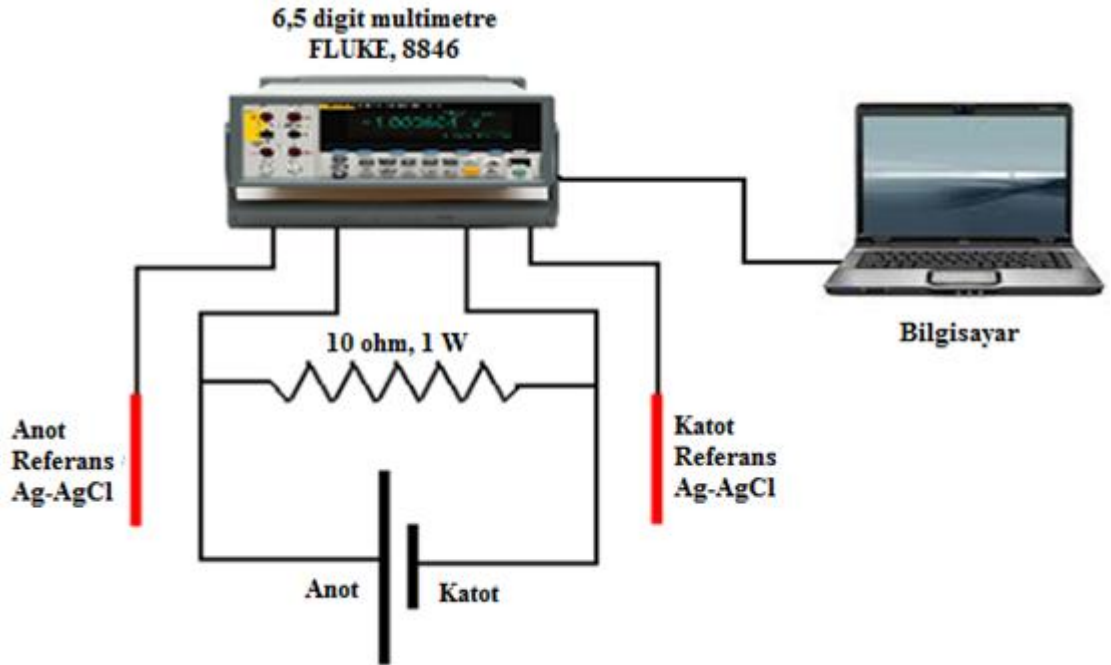


Şekil 5.2 Sistemin genel görünümü

MYH'lere 10 Ω 'luk direnç bağlanmıştır. Üretilen akım ve voltaj dijital multimetre aracılığıyla ölçülmüştür. Veriler 2,5 dk aralıklarla bilgisayara kaydedilmiştir. Şekil 5.3'te çalışmada kullanılan multimetre, Şekil 5.4'te voltaj ölçüm sistemine ait detaylar gösterilmiştir.



Şekil 5.3 Dijital Multimetre (Fluke-8846)



Şekil 5.4 Voltaj ölçüm sistemi

Çalışmada kullanılan dijital multimetrenin teknik özellikleri Çizelge 5.4'te verilmiştir.

Çizelge 5.4 Fluke-8846 Dijital Multimetrenin teknik özellikleri [52]

Özellik	Değer
Hassasiyet	6.5 Dijit
Voltaj (DC)	Kademeler: 100 mV -1000 V Hassasiyet: 0.0024 + 0.0005
Voltaj (AC)	Kademeler: 100 mV -1000 V Max. Çözünürlük: 100 nV Hassasiyet: 0.06 + 0.03 Frekans: 3 Hz -100 KHz
Rezistans	Kademeler: 10 Ω - 1 G Ω Max. Çözünürlük: 100 $\mu\Omega$ 10 $\mu\Omega$ Hassasiyet: 0.010 + 0.001 0.010 + 0.001
Amper (DC)	Kademeler: 100 μ A - 10 A Hassasiyet: 0.050 + 0.005
Amper (AC)	Kademeler: 100 mA - 10 A Hassasiyet: 0.10 + 0.04 Frekans: 3 Hz to 10 kHz
Frekans /Periyod	Kademeler: 3 Hz -1 MHz Hassasiyet: 0.01 %
Sıcaklık	Tip: Platin Kademeler: -200 °C - +600 Hassasiyet: 0.06

5.6 Analizler

Yaklaşık 7 hafta süren çalışma boyunca belirli aralıklarla anot ve katot bölmelerinden numune alınarak pH analizi yapılmıştır. Çalışmada ayrıca uçucu yağ asiti (UYA) konsantrasyonlarına da bakılmıştır. UYA analize ait detaylar şöyledir: Numuneler 15

dakika boyunca 9000 devirde santrifüj edilir ve elde edilen süzöntü 0,22 µm'lik filtereden süzülür. 1 mL numuneye 0,2 mL %10'luk H₃PO₄ eklenir. Fosforik asit eklenmiş numune gaz kromatografisine enjekte edilir. UYA analizi alev iyonizasyonu dedektörlü (FID) ve 30 m x 0.25 mm TRB-FFAP kapiler kolonlu (film kalınlığı= 0,25 µm) gaz kromatografisinde (GC-2010 Shimadzu) yapılmaktadır. Enjektör girişinin ve dedektörün sıcaklıkları 250 °C'dir. Fırının sıcaklığı 60 °C'de 1 dak, sonrasında 5°C/dak artışla 230 °C'ye ulaşmakta ve 230 °C'de 1 dak boyunca sabitlenmektedir. Taşıyıcı gaz olan azot gazının debisi 30 mL/dak, hidrojen gazı debisi 40 ml/dak ve kuru hava debisi 400 ml/dk' dır.

5.7 Moleküler Teknikler

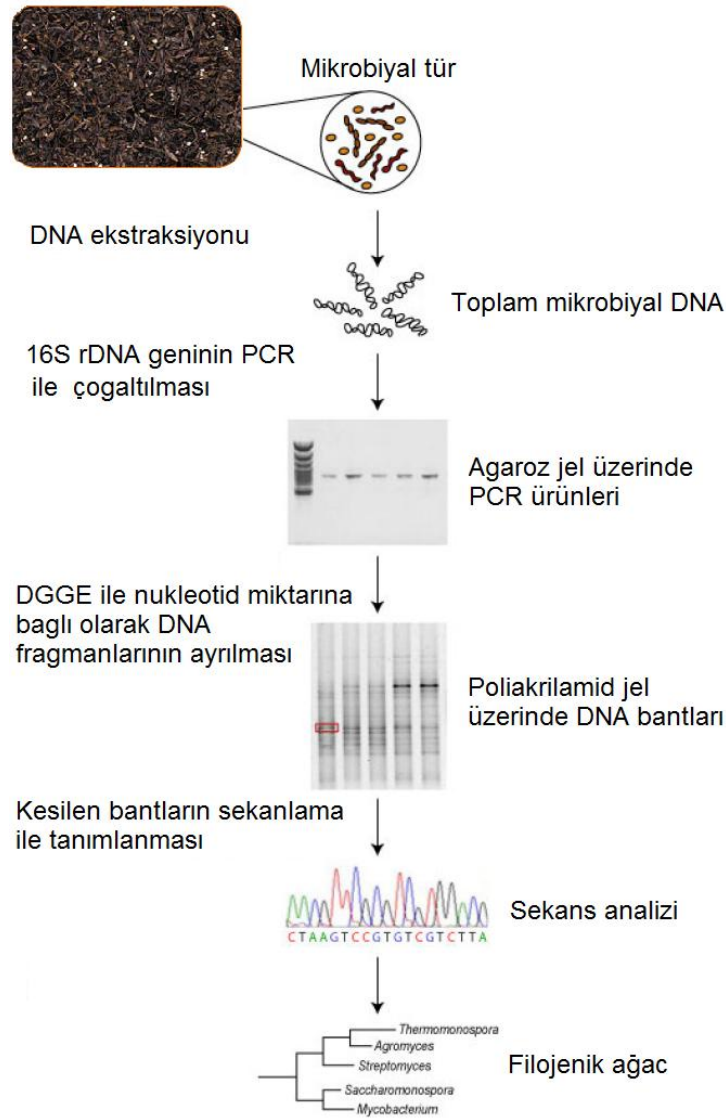
Çalışmada her iki MYH'den de farklı zamanlarda alınan örneklerde ve zenginleştirilmiş haliç numunesinde mikrobiyal tür tayini yapılmıştır.

Mikrobiyal tür tayini; nükleik asit ekstraksiyonu, PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu), DGGE (Denatüre Gradyan Jel Elektroforezi) ve Nükleik Asit Dizisinin belirlenmesi kademelerinden oluşmaktadır. Şekil 5.5'te moleküler analiz yöntemlerinin uygulama akış şeması verilmiştir.

MYH reaktöründe moleküler tekniklerle mikrobiyal tür analizleri yapılmıştır. Bu kapsamda, numunelerden ilk olarak nükleik asitler ekstre edilmiş, ekstre edilen DNA'lar, -20°C'de muhafaza edimiştir. Ekstre edilen DNA karışımlarının 16S rRNA genleri, PCR yöntemi kullanılmak sureti ile ısı döngüleme (Thermal Cycler) aleti ile çoğaltılmıştır. Bu işlem sonrası metanojenik tür çeşitliliği, "denature gradyan jel elektroforezi" (DGGE) ve DNA dizi analiziyle belirlenmiştir. Çalışmada kullanılan moleküler tekniklere ait detaylar aşağıda verilmiştir.

5.7.1 Nükleik Asit Ekstraksiyonu

DNA izolasyonunda, numuneler 10 dakika 14000 devir/dakika'da santrifüj edilerek konsantre hale getirildikten sonra zirconia/silica boncuklar kullanılarak mekanik olarak dağıtılmaktadır. FASTPREP-24 cihazı ile gerçekleştirilecek mekanik parçalamadan sonra ortaya çıkan DNA, FastDNA SPIN Kit (Q-BIOgene) prosedürüne uygun olarak saflaştırılmıştır.

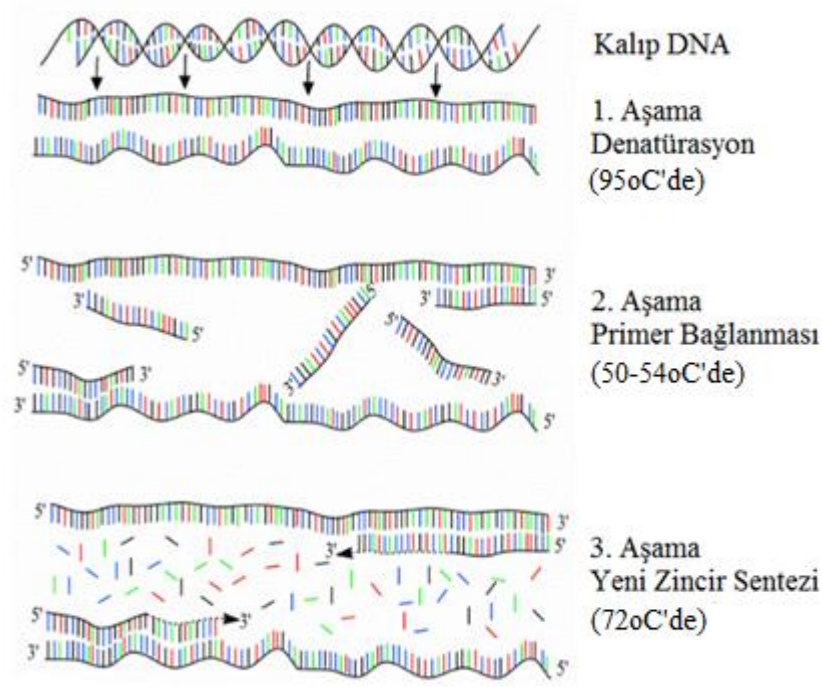


Şekil 5.5 Moleküler analiz yöntemlerinin uygulama akış şeması

5.7.2 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

PCR, DNA'nın "in vitro" yani canlı organizma dışındaki yapay ortamda çoğaltılması işlemidir. Bu işlemde, DNA moleküllerini kopyalayan DNA polimeraz enzimi ile DNA, deney tüpünde milyonlarca kez çoğaltılmış olur. Çok az miktarda DNA ile bu işlemin yapılabilmesi büyük avantajdır.

Bir PCR döngüsü sırasıyla, yüksek sıcaklıkta (95°C) DNA'nın iki zincirinin birbirinden ayrılması, sıcaklığın düşmesiyle (50-54°C) yapay oligonükleotitlerin (primer) hedef DNA'ya bağlanması ve son olarak DNA polimerazın hedef zinciri kalıp olarak primerleri uzatması (72°C) işlemlerinden oluşur (Şekil 5.6). Her döngüden sonra, oluşan zincirler yüksek sıcaklıkta tekrar ayrıştırılır ve yeni bir çoğaltma döngüsü başlar [53].



Şekil 5.6 Bir PCR döngüsü [54]

Çalışmada, PCR amplifikasyonu ile çoğaltılan 16S rRNA genleri DGGE analizlerinde kullanılmıştır. 16S rRNA genleri için çeşitli primerler kullanılarak Biorad Termocycler ile amplifikasyonu gerçekleştirilmiştir.

5.7.3 Denatüre Gradyan Jel Elektrofrez (DGGE)

Elektrofrez, PCR ile çoğaltılmış DNA örneklerindeki tek baz değişimlerinin ve polimorfizmin belirlenmesinde etkili bir genetik analiz yöntemidir. Bu yöntemde, yüklü moleküller bir elektrik alanı içerisinde yürütülerek ayrıştırılır. Elektrik akımı ile birlikte negatif yüklü olan nükleik asitler jel boyunca hareket ederler. Moleküldeki yük ve molekülün şekil ve büyüklüğüne göre yürüme oranı belirlenir. Belirli bir süre sonunda DNA ultraviyole ışık altında görüntülenir [8].

Çalışmada dizi analizi öncesi tür farklılıkları, denatüre gradyan jel elektrofrez (DGGE) tekniği ile tespit edilmiştir.

5.7.4 DNA Dizi Analizi

Klasik PCR ile 16S rRNA genlerinin çoğaltılmasından sonra, DGGE analiziyle türler birbirinden ayırt edilmiştir. PCR ya da DGGE jellerinde görüntülenen bantlar, uygun saflaştırma kitleri kullanılarak saflaştırılmıştır. Bu ürünler daha sonra “dye terminator

cycle sequencing” reaksiyonuna sokularak floresan işaretli fragmanların amplifikasyonları gerçekleştirilmiştir. Elde edilen ürün saflaştırılmış ve formamid çözeltisi içinde süspanse edilmiştir. Daha sonra TÜBİTAK Projesi kapsamında hizmet alımı ile numunelerde dizi analizi gerçekleştirilmiştir.

5.7.5 Filojenik Ağaç

Dizi analizi sonuçları ile Gen Bankasından bulunan türlerin filojenisi UGENE 1.9.1 (Unipro UGENE: Integrated Bioinformatics Tools) programı vasıtasıyla analiz edilerek filojenik ağaç oluşturulmuştur.

5.8 Kinetik Modelleme

Mikrobiyal elektroliz hücrelerinde, anot solunum bakterileri (ARB) anodu nihai elektron alıcısı olarak kullanırlar. Çünkü anot katıdır, solunum kinetiğini kontrol edecek bir konsantrasyona sahip değildir. Bunun yerine ARB anot potansiyeline tepki gösterir. Bakteri kinetiği, anot potansiyelinin bir fonksiyonu olarak, akım yoğunluğuna, substrat konsantrasyonuna ve anot potansiyeline bağlı olarak Nernst-Monod eşitliğiyle açıklanabilir [55, 56]:

$$j = j_{\max} \underbrace{\frac{S}{K_S + S}}_{\text{Biyolojik faktör}} \underbrace{\frac{1}{1 + \exp\left[-\frac{\eta F}{RT}\right]}}_{\text{Elektrokimyasal faktör}} \quad (5.1)$$

j = Substrat tüketim hızı (A/m^2)

$j_{\max}$ = Maksimum akım yoğunluğu (A/m^2)

S = Substrat konsantrasyonu ($g\ KOI/m^3$)

K_S = Maksimum spesifik büyüme hızının yarısına karşılık gelen substrat konsantrasyonu ($g\ KOI/m^3$)

$\eta = E_{\text{Anot}} - E_{KA}$ (V)

E_{Anot} = Anot potansiyeli (V)

E_{KA} = Maksimum akım yoğunluğunun yarısına karşılık gelen anot potansiyeli(V)

R = İdeal gaz sabiti ($8,3145\ J/mol\cdot K$)

T = Sıcaklık (K)

F= Faraday sabiti (96485 J/V-mol)

$j_{\max}$ değeri, anot üzerindeki bakteri miktarı ve bakterinin maksimum substrat tüketim hızına bağlıdır:

$$j_{\max} = 0.14f_e q_{\max} X_f L_f \quad (5.2)$$

0,14= Dönüşüm sabiti (0,14 A= 1 g KOİ/gün)

$q_{\max}$ = Substrat maksimum tüketim hızı (g KOİ/ g UAKM.gün)

X_f = Biofilmdeki bakteri yoğunluğu (g UAKM/ m³)

L_f = Biyofilm kalınlığı (m)

f_e^0 = Akıma dönüşen elektron fraksiyonu

Çalışmada Ti-TiO₂ reaktöründe elde edilen verilerle Nerst-Monod eşitliği kullanılarak biyoelektrokimyasal kinetik model uygulanmış ve lineer olmayan regresyonla MATLAB kullanılarak kinetik katsayılar belirlenmiştir.

DENEY SONUÇLARI ve DEĞERLENDİRMELER

6.1 Reaktörlerin Devreye Alınması

Reaktörler devreye alınmadan önce uygun anaerobik bakteri kültürünün seçilmesi için kültür zenginleştirme çalışmaları yapılmıştır. Kullanılan sentetik besiyerinde karbon kaynağı olarak glikoz kullanılmıştır. Uygun kültür tespit edildikten sonra reaktörler 1 hafta deneme amaçlı işletilmiştir. Ardından Ti-TiO₂ reaktörü 45 gün ve karbon reaktörü 40 gün süreyle kesikli olarak işletilmiştir.

6.1.1 Kültür Zenginleştirme Çalışmaları

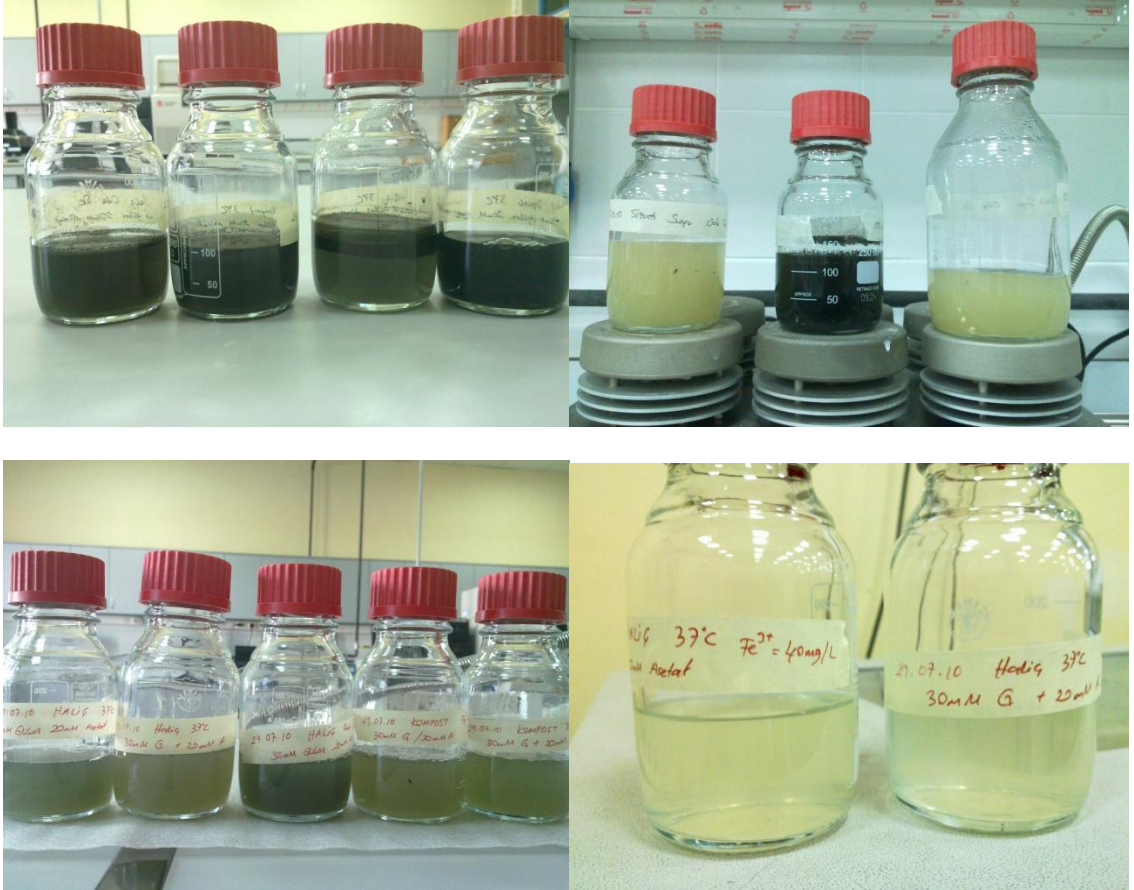
Ön çalışmalar sırasında farklı kaynaklardan elde edilen bakteri kültürlerinin zenginleştirilmesi gerçekleştirilmiştir. Bakteri kültürleri Haliç dip çamuru ve Denizli Karahayit Kaplıcası'na ait sulu çamur ve İstanbul Kemerburgaz Kompost ve Geri Kazanım Tesisi'nden temin edilen kompost örnekleridir.



Şekil 6.1 Kültür zenginleştirme yapılan şişelerden görüntüler

Bakteri kültür zenginleştirme işlemi 250 ml'lik şişelerde 100 ml'lik sentetik besiyerine 2 gr bakteri kültürü ilavesiyle yapılmıştır. İçerisindeki havayı uzaklaştırmak ve anaerobik şartları sağlamak için şişe 2 dakika süreyle azot gazı ile havalandırılmıştır. Daha sonra şişelerin ağzı kauçuk tıkaçlarla hava almayacak şekilde kapatılmıştır. Birinci zenginleştirme sonrası elde edilen bakteri kültürü Şekil 6.1'de gösterilmiştir.

Çalışma iki farklı sıcaklık değerinde yapılmış olup, 37°C'de yapılan çalışmalar sıcaklık ayarlı çalkalayıcıda, oda sıcaklığında yapılan çalışmalar ise manyetik karıştırıcı kullanılarak sürdürülmüştür. Zenginleştirme işlemi üç gün süreyle devam ettirilmiş ve 24 saatte bir biyogaz miktarı şırınga kullanılarak ölçülmüştür. Birinci zenginleştirmeyi takiben aynı yöntemle 5 ml zenginleştirilmiş bakteri kültürü kullanılarak ikinci zenginleştirme yapılmıştır. Kültür zenginleştirmesi yapılan şişelerin görüntüsü Şekil 6.2'de verilmiştir.



Şekil 6.2 Kültür zenginleştirmesi yapılan şişelerden görüntüler

Zenginleştirme sırasında ölçülen biyogaz miktarları Çizelge 6. 1'de verilmiştir.

Çizelge 6.1 Glikoz kullanarak yapılan zenginleştirme çalışmaları sonunda elde edilen biyogaz miktarları

Zenginleştirme 1		
Kültür kaynağı	Sıcaklık (°C)	Biyogaz miktarları (ml)
Haliç dip çamuru	37	275
Haliç dip çamuru	Oda sıc. (24±4)	355
Denizli Karahayıt Kaplıcası	37	265
Kompost	37	460
Zenginleştirme 2		
Haliç dip çamuru	37	225
Haliç dip çamuru	Oda sıc. (24±4)	190
Denizli Karahayıt Kaplıcası	37	190
Kompost	37	190

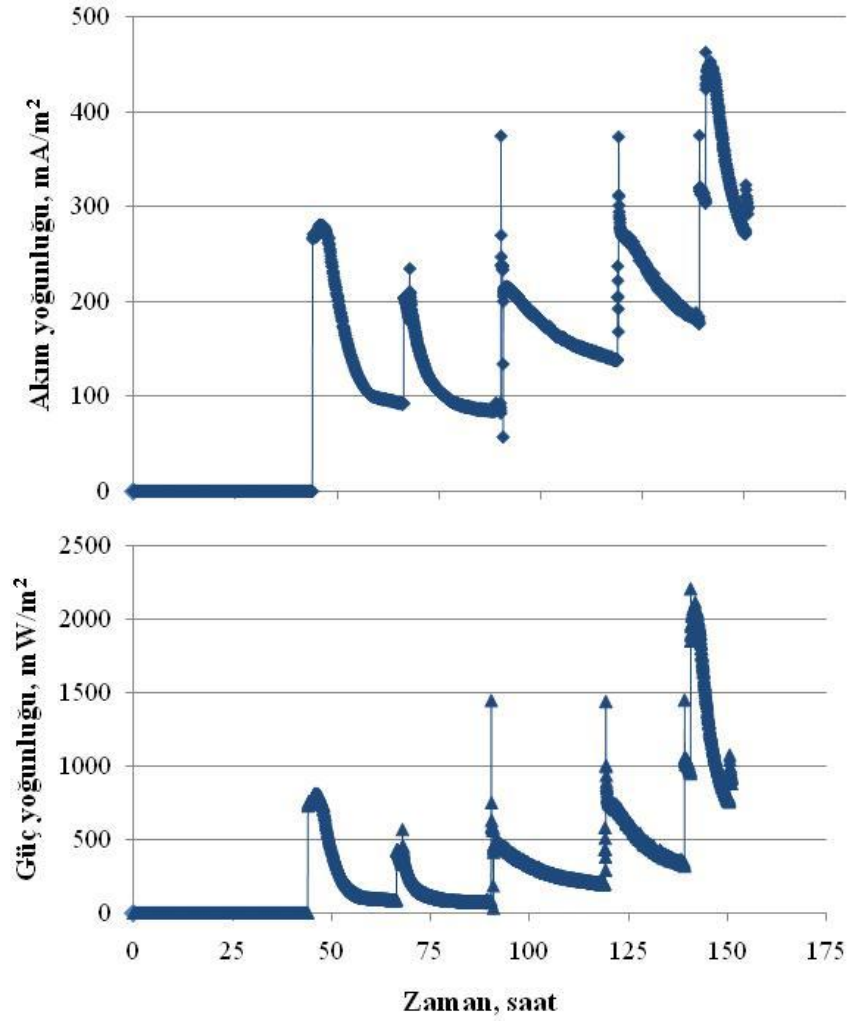
En fazla biyogaz miktarı birinci zenginleştirmede 460 ml ile kompost (37°C) numunesinde ve ikinci zenginleştirmede ise 225 ml ile Haliç dip (37°C) numunesinde elde edilmiştir. Her iki zenginleştirme sonrasındaki toplamda ise en yüksek biyogaz oluşumu 650 ml kompost (37°C) numunesinde gözlenmiştir. Haliç numunesinin oda sıcaklığının toplam biyogaz miktarı 545 ml ile 37°C'den daha fazla olmuştur. Haliç dip numunesinin oda sıcaklığı ve 37 °C'deki biyogaz miktarlarının birbirine yakın olması ve ısıtma için ek enerji gereksinimi olmadığından MYH çalışmaları için Haliç oda sıcaklığı numunesi uygun görülmüştür.

6.1.2 MYH'lerin Devreye Alınması

MYH çalıştırılmadan önce saf su kullanarak sızdırmazlık testi yapılmıştır. Daha sonra MYH' nin anot bölmesi 250 ml sentetik atıksu ve 50 ml bakteri kültürü ile doldurulup 5 dk süreyle azot gazı ile havalandırılmıştır. MYH'de kullanılan sentetik besiyeri, bakteri kültür zenginleştirme aşamasında kullanılan besiyeri ile aynı konsantrasyonda hazırlanmıştır. Katot bölmesi saf su ile doldurulmuş ve sürekli olarak havalandırılmıştır. Anot bölmesi ise kesikli moda çalıştırılmış ve manyetik karıştırıcı ile tam karışımı sağlanmıştır. Her gün anot bölmesinin numune alma deliğinden 30 ml numune alınıp 30

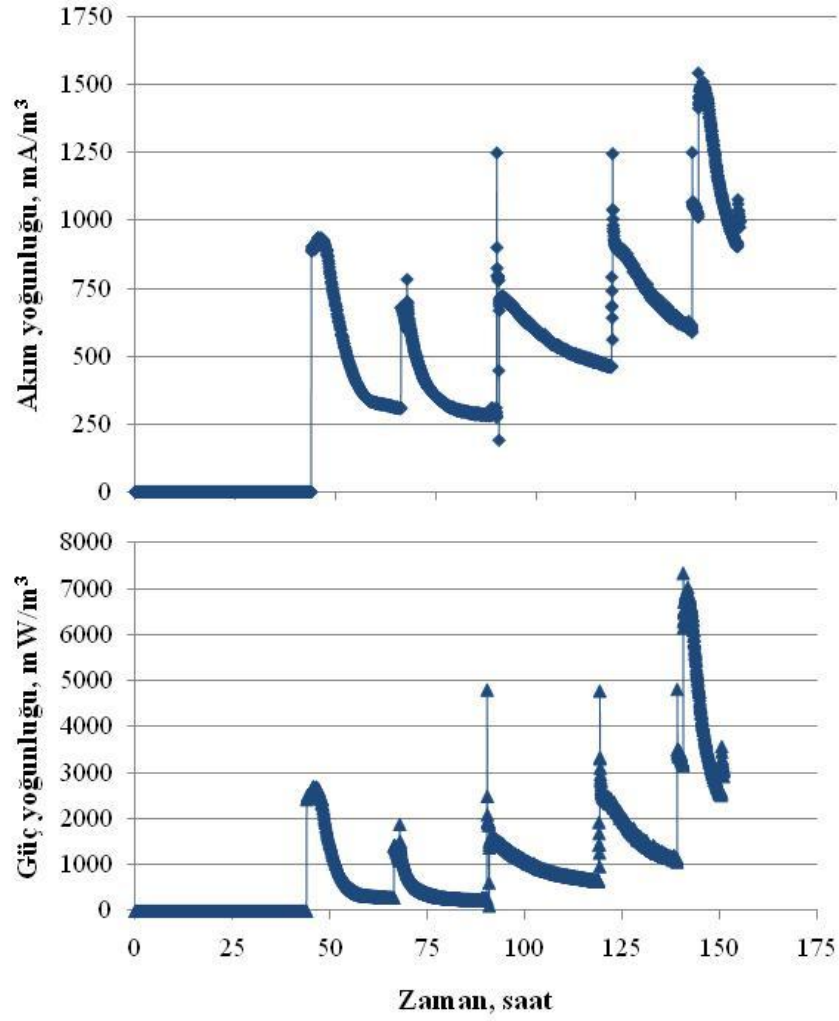
ml besiyeri eklenmiştir. İlave edilen besiyerindeki kimyasalların konsantrasyonu on kat yoğun konsantrasyonda hazırlanarak her besleme sonrası 30/300 oranındaki seyrelme ile birlikte reaktördeki besin konsantrasyonun sabit kalması sağlanmıştır.

Ti-TiO₂ elektrot ile işletilmeye başlanan mikrobiyal yakıt hücresi, 50 mM glikoz konsantrasyonunda, oda sıcaklığında (24±4°C) 1 hafta süreyle kesikli beslenmiştir. 1 hafta sonunda elde edilen akım ve güç yoğunlukları Şekil 6.3 ve Şekil 6.4'te gösterilmiştir.



Şekil 6.3 Ti-TiO₂ elektrot ile elde edilen akım ve güç yoğunlukları (elektrot alanına bağlı)

Elde edilen maksimum akım ve güç yoğunlukları sırayla 462,6 mA/m² ve 2205,08 mW/m²'dir.

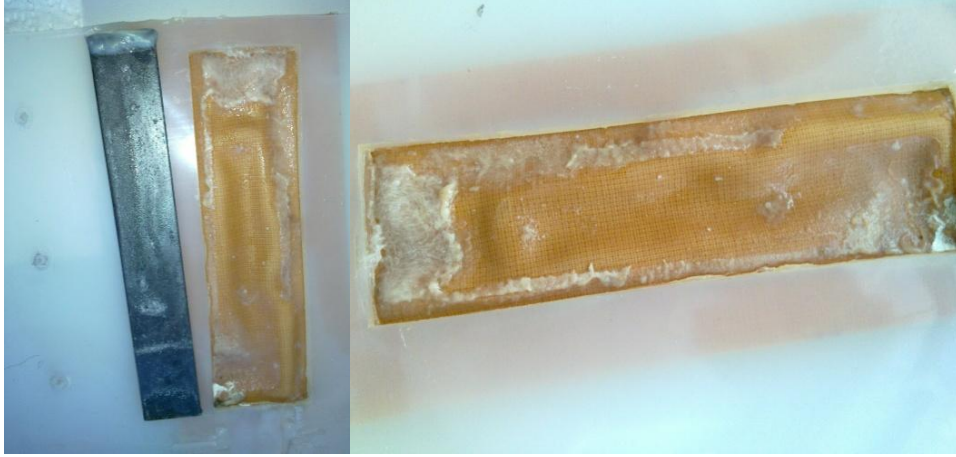


Şekil 6.4 Ti-TiO₂ elektrot ile elde edilen akım ve güç yoğunlukları (anot bölmesinin hacmine bağlı)

Şekil 6.4'te anot bölmesinin hacmine bağlı olarak hesaplanan akım ve güç yoğunlukları gösterilmiştir. Buna göre elde edilen maksimum akım ve güç yoğunlukları sırayla 1541,9 mA/m³ ve 7350,25 mW/m³'tür.

Reaktörlerden çıkartılan elektrot ve membran üzerindeki biyofilm görüntüleri Şekil 6.5' te verilmiştir

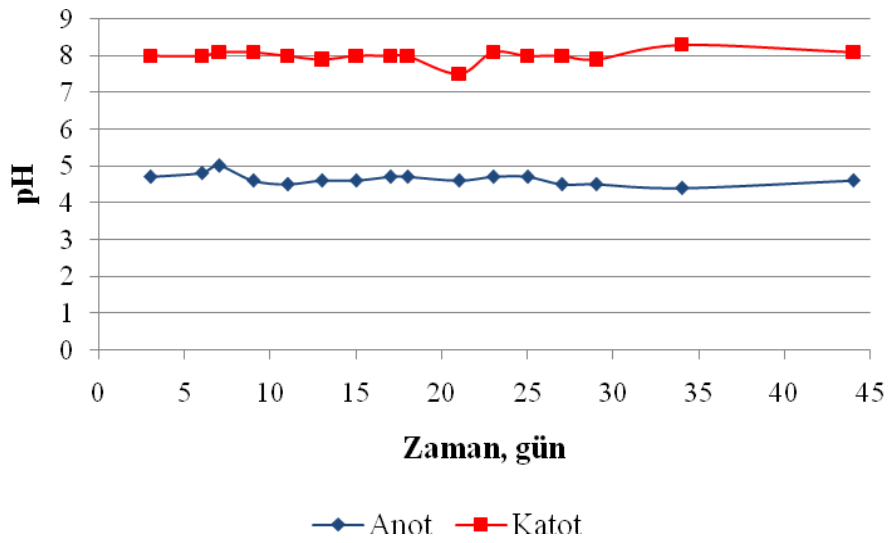
Deneme işletmesinin ardından Ti-TiO₂ ve grafit MYH'ler sırayla 45 ve 40 gün kesikli beslemeli olarak işletilmiştir. Çalışma süresince 0-75 mM arasında farklı glikoz konsantrasyonlarında besleme yapılmıştır. Her bir yeni konsantrasyona, sistem kararlı hale geldikten sonra geçilmiştir.



Şekil 6.5 Elektrot ve membran üzerinde biyofilm oluşumu

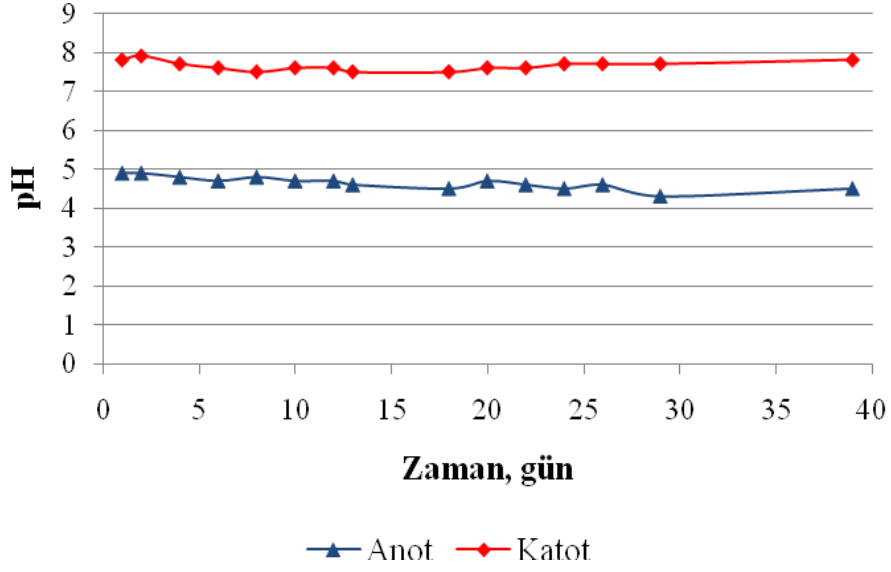
6.2 pH

Reaktörlerin anot ve katot bölmelerinden alınan numunelerin pH analizleri yapılmıştır. Ti-TiO₂ ve grafit MYH'nin anot ve katot bölmelerinin pH değerleri sırayla Şekil 6.6 ve Şekil 6.7'de gösterilmiştir.



Şekil 6.6 Ti-TiO₂ MYH'nin anot ve katot bölmelerinin pH değerleri

Ti-TiO₂ MYH'de pH, anot bölmesinde $4,7 \pm 0,3$ ve katot bölmesinde $7,9 \pm 0,4$ değerlerindedir.



Şekil 6.7 Grafit MYH'nin anot ve katot bölmelerinin pH değerleri

Grafit MYH'de ise pH, anot bölgesinde $4,6 \pm 0,3$ ve katot bölgesinde $7,7 \pm 0,2$ değerlerindedir. Her iki MYH'de de anot ve katot bölmeleri arasındaki pH farkı oldukça yüksektir. Yapılan araştırma sonunda bölmeler arası pH farkının artmasının, iç direnci düşürdüğü görülmüştür [36]. Bir başka çalışmada da anot bölgesinin pH'sının nötr olduğu durumlarda maksimum akım elde edildiği görülmüştür [44].

Reaktörde tampon çözelti kullanmadıkça anot ve katot bölmeleri arasında pH farklarının oluştuğu, fakat teoride anot bölgesindeki proton üretim hızının, katot bölgesindeki proton, elektron ve oksijenin reaksiyon hızına eşit olduğunda pH farkının olmayacağı bilinmektedir [10].

6.3 Uçucu Yağ Asiti (UYA)

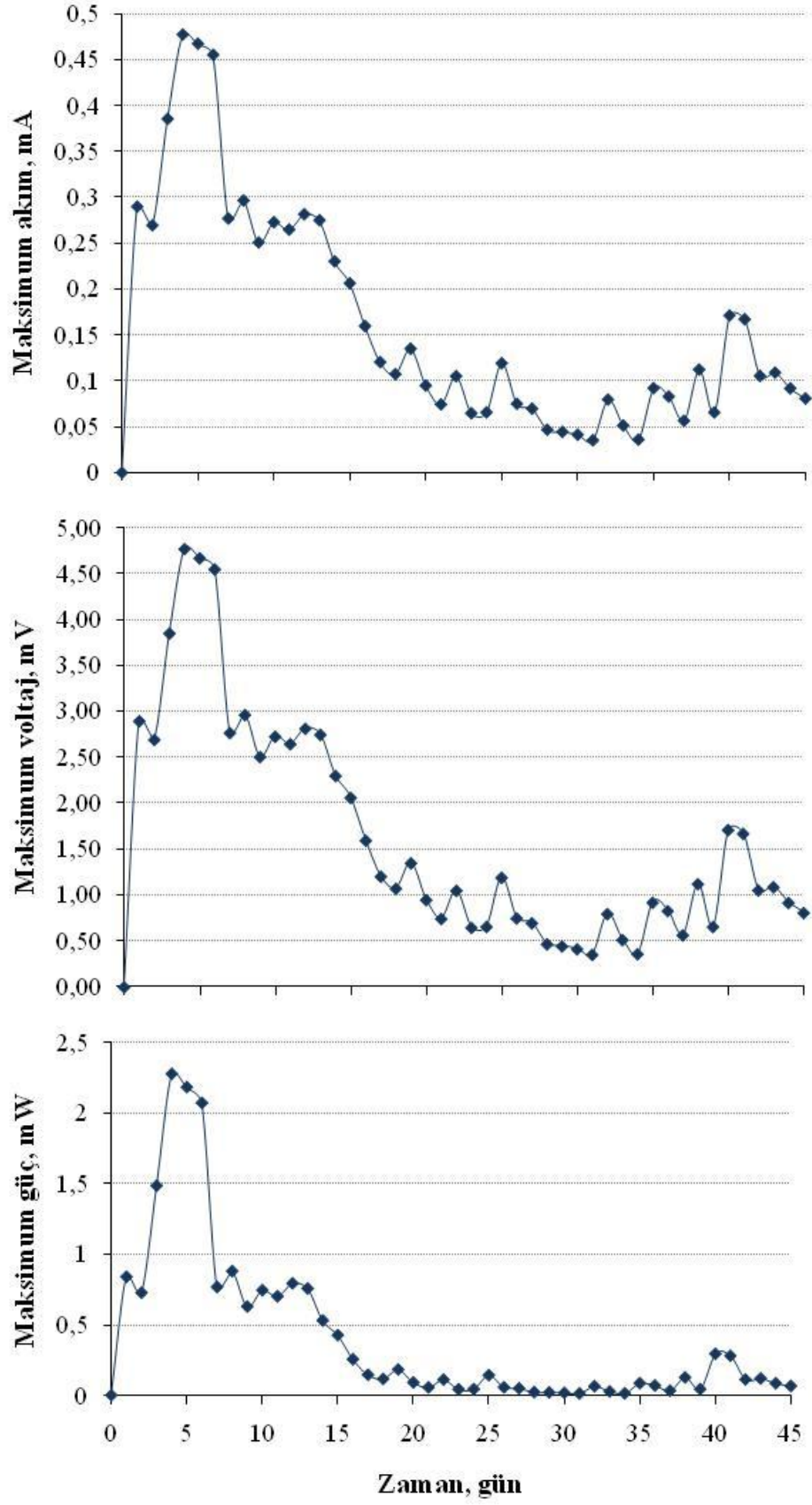
Çalışmada Ti-TiO₂ MYH'den farklı zamanlarda alınan numulere uçucu yağ asiti analizi yapılmıştır. Çizelge 6.2'den de görüleceği gibi reaktörde zamanla UYA birikimi olmuştur. En fazla UYA konsantrasyonu, 75 mM glikoz konsantrasyonunda elde edilmiş olup bu değer 2188,08 mg/L'dir. Analizi yapılan UYA arasında en yüksek konsantrasyona sahip olan asetik asittir.

Çizelge 6.2 Uçucu yağ asidi konsantrasyonları

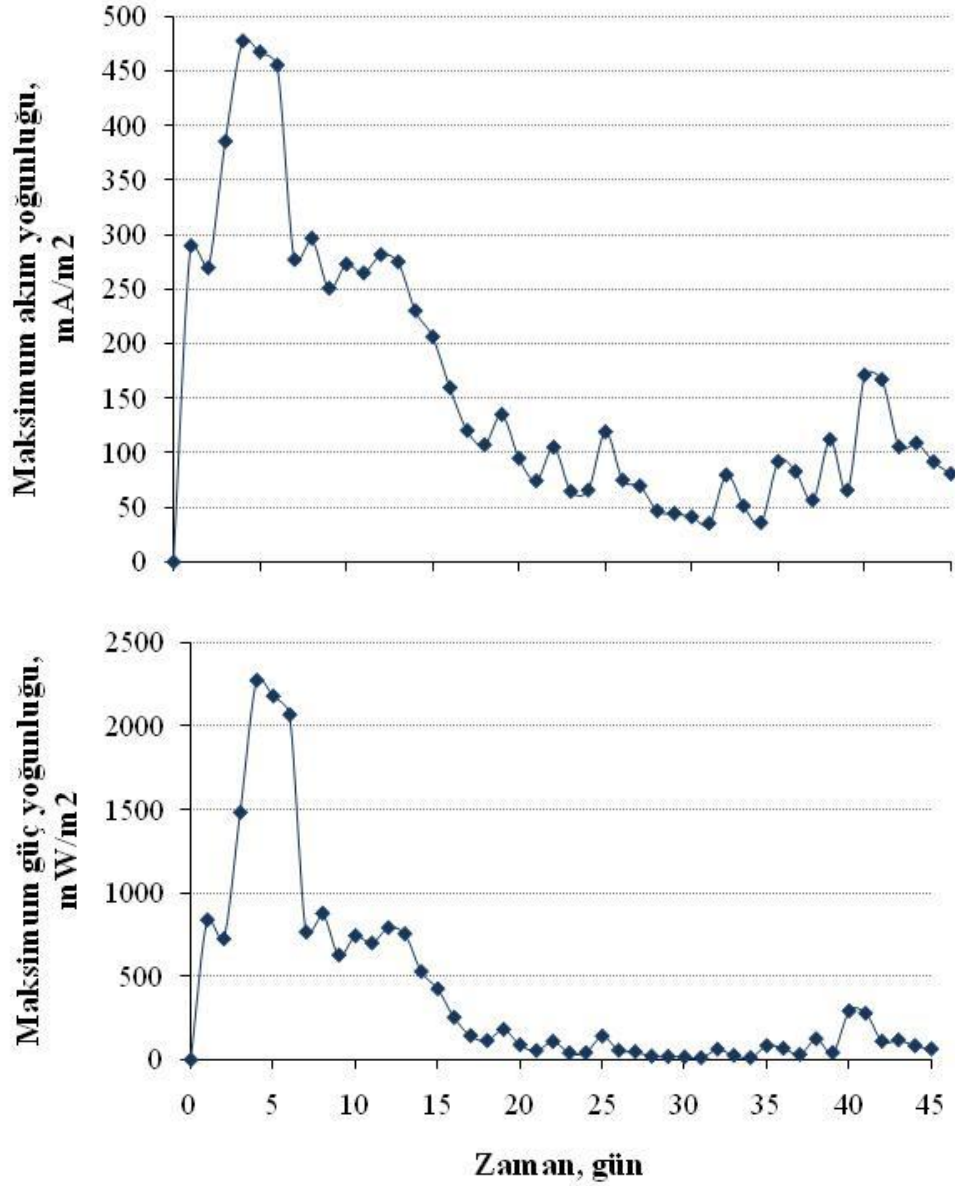
Substrat Konsantrasyonu (mM)	Asetik (mg/L)	Propiyonik (mg/L)	Bütirik (mg/L)	Izo Kaproik (mg/L)	Kaprilik (mg/L)	Dekanoik (mg/L)	UYA (toplam) (mg/L)
50	92,94	0,00	0,00	169,38	24,51	0,00	286,83
50	357,93	9,18	12,24	416,31	0,00	76,20	871,86
50	988,28	10,98	14,64	151,92	0,00	206,63	1372,44
75	1920,07	13,55	18,07	74,79	0,00	161,60	2188,08
25	1821,12	10,95	14,60	26,34	0,00	95,75	1968,75
40	1659,66	18,32	24,43	11,76	0,00	93,37	1807,54

6.4 Ti-TiO₂ MYH ile Elde Edilen Elektriksel Sonuçlar

Şekil 6.8’de 45 günlük işletme boyunca ölçülen günlük maksimum voltaj ve buna bağlı olarak hesaplanan akım ve güç değerleri görülmektedir. Buna göre ölçülen maksimum voltaj 4,77 mV, maksimum akım 0,47 mA ve maksimum güç değeri 2,27 mW olup, bu değerler MYH’yi devreye aldıktan 4 gün sonra 50 mM glikoz konsantrasyonunda elde edilmiştir. 13 gün sonra konsantrasyon 75 mM’a çıkarılmıştır. Konsantrasyonun artmasıyla üretilen akım düşmüştür. Düşen akıma bağlı olarak besleme konsantrasyonu da azaltılmış ve 4 gün sonra 40 mM’a düşürülmüştür Akımın düşmesiyle birlikte, membranın tıkanmış olma ihtimaline karşı ve mikroorganizmaları şok yüke maruz bırakmamak için 22.gün konsantrasyon 25 mM’a düşürülmüştür. Akım üretimi kararlı hale geldikten sonra konsantrasyon tekrar 50 mM’a çıkartılmış ve bu konsantrasyonla elde edilen ortalama voltaj 1,06 mV iken çalışma sonlandırılmıştır.



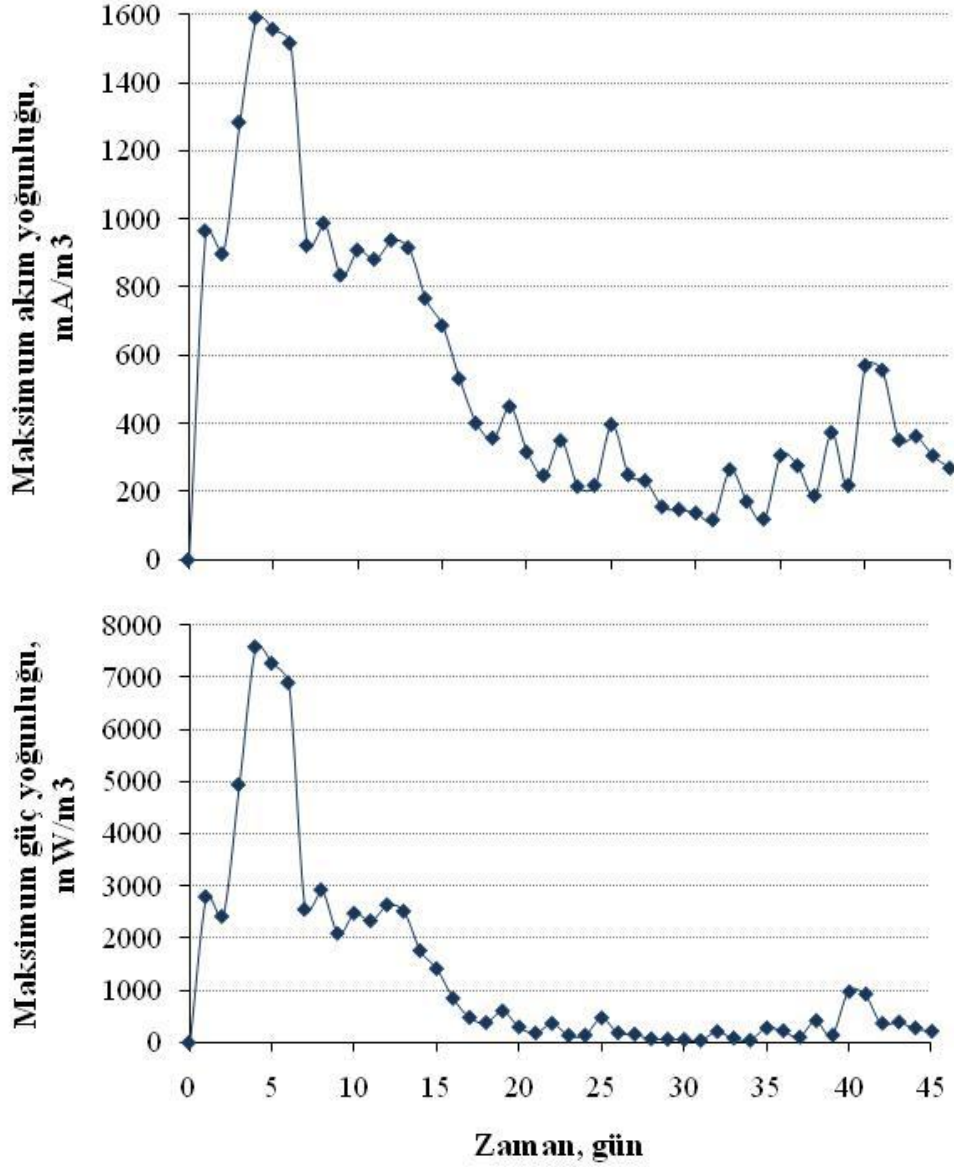
Şekil 6.8 Günlük maksimum akım, voltaj ve güç değerleri



Şekil 6.9 Elektrot alanına bağlı olarak hesaplanan günlük maksimum akım ve güç yoğunlukları

Şekil 6.9'da anot elektrot alanına bağlı olarak hesaplanan maksimum akım ve güç yoğunlukları verilmiştir. Buna göre 45 gün süren kesikli işletme sonunda elde edilen maksimum akım yoğunluğu 477 mA/m^2 , maksimum güç yoğunluğu 2272 mW/m^2 'dir. Bu değerler 50 mM glikoz konsantrasyonunda elde edilmiştir. Ti-TiO₂ MYH'yi işletmeye aldıktan 13 gün sonra 75 mM glikoz beslendiğinde elde edilen maksimum akım ve güç yoğunlukları sırasıyla 274 mA/m^2 ve 754 mW/m^2 'dir. Glikoz konsantrasyonunun 17.günden sonra 40 mM'a düşmesiyle maksimum akım ve güç yoğunlukları sırayla 135 mA/m^2 ve 182 mW/m^2 'ye düşmüştür. Konsantrasyon 25 mM'a

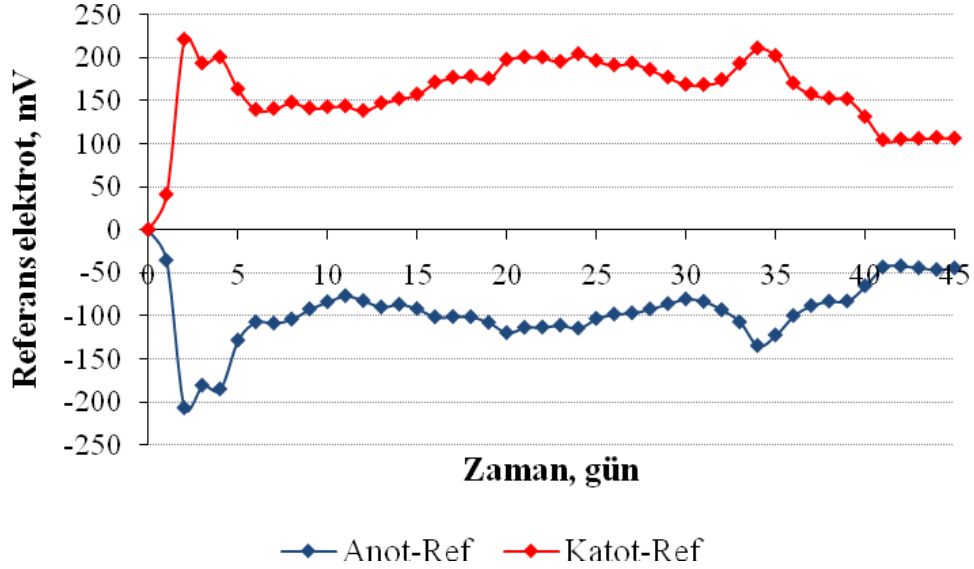
düşürüldüğünde elde edilen maksimum akım ve güç yoğunluğu da 119 mA/m^2 ve 142 mW/m^2 'ye düşmüştür. Bu noktadan sonra konsantrasyon tekrar 50 mM 'a çıkartılmıştır. Şekil 6.10'da anot bölmesinin hacmine bağlı olarak hesaplanan akım ve güç yoğunlukları görülmektedir. Buna göre elde edilen maksimum akım ve güç yoğunlukları sırayla 1590 mA/m^3 ve 7574 mW/m^3 'tür.



Şekil 6.10 Anot bölmesinin hacmine bağlı olarak hesaplanan günlük maksimum akım ve güç yoğunlukları

Şekil 6.11'de Ti-TiO₂ reaktörüne ait çalışma boyunca ölçülen anodik ve katodik oksidasyon redüksiyon potansiyelleri (ORP) görülmektedir. Buna göre ORP ilk 2 gün -50 mV ve 50 mV değerlerindedir. 2 gün sonra bu değerler -200 mV ve 200 mV

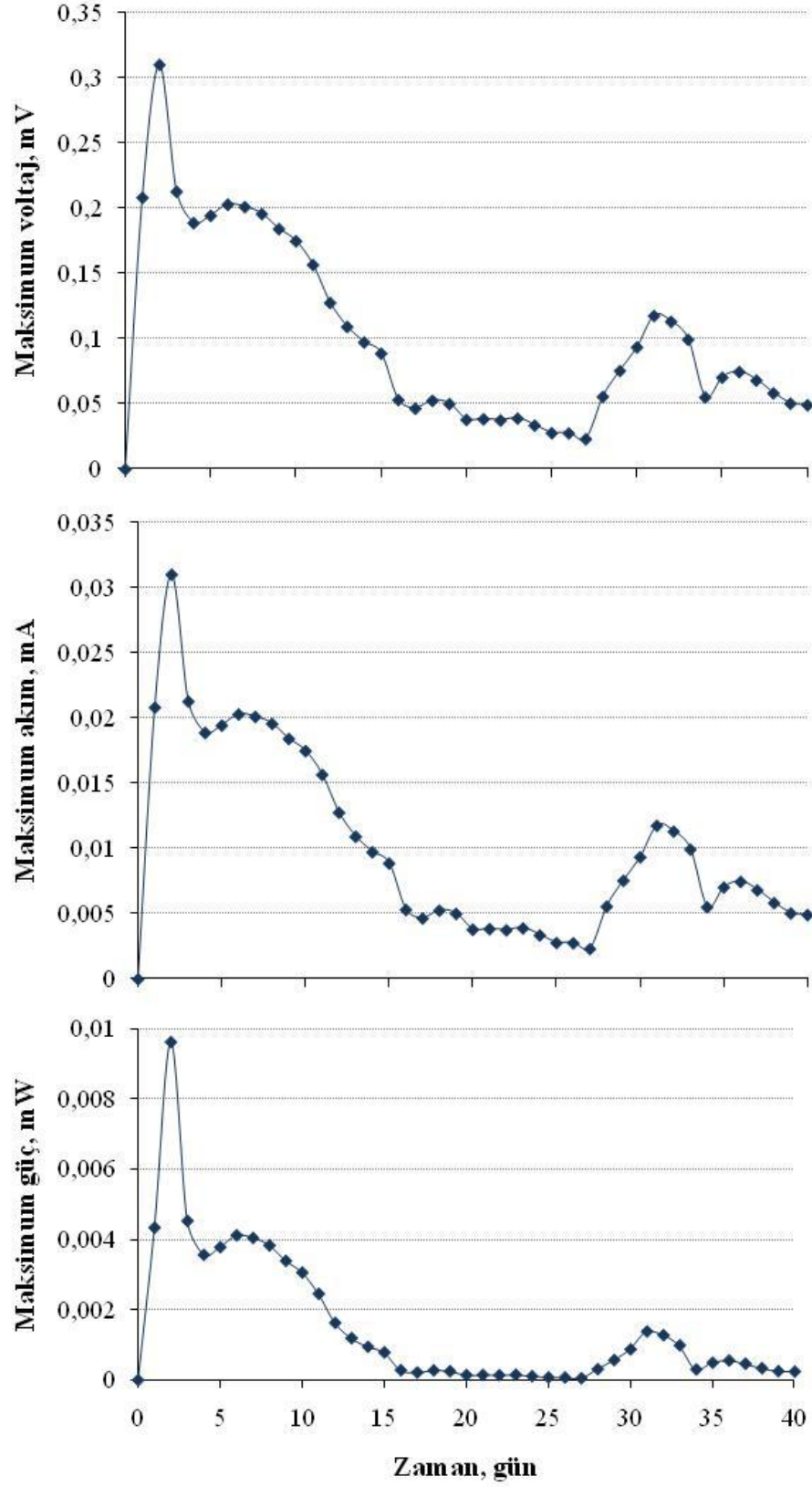
değerlerine ulaşmıştır. Sonraki 30 gün boyunca da -100 mV ile 175 mV arasında değerler almıştır. Bu değerler sistemde istenilen anaerobik ve aerobik şartların sağlandığını göstermektedir.



Şekil 6.11 Ti-TiO₂ reaktörüne ait Anot – Katot bölmelerinin oksidasyon redüksiyon potansiyelleri

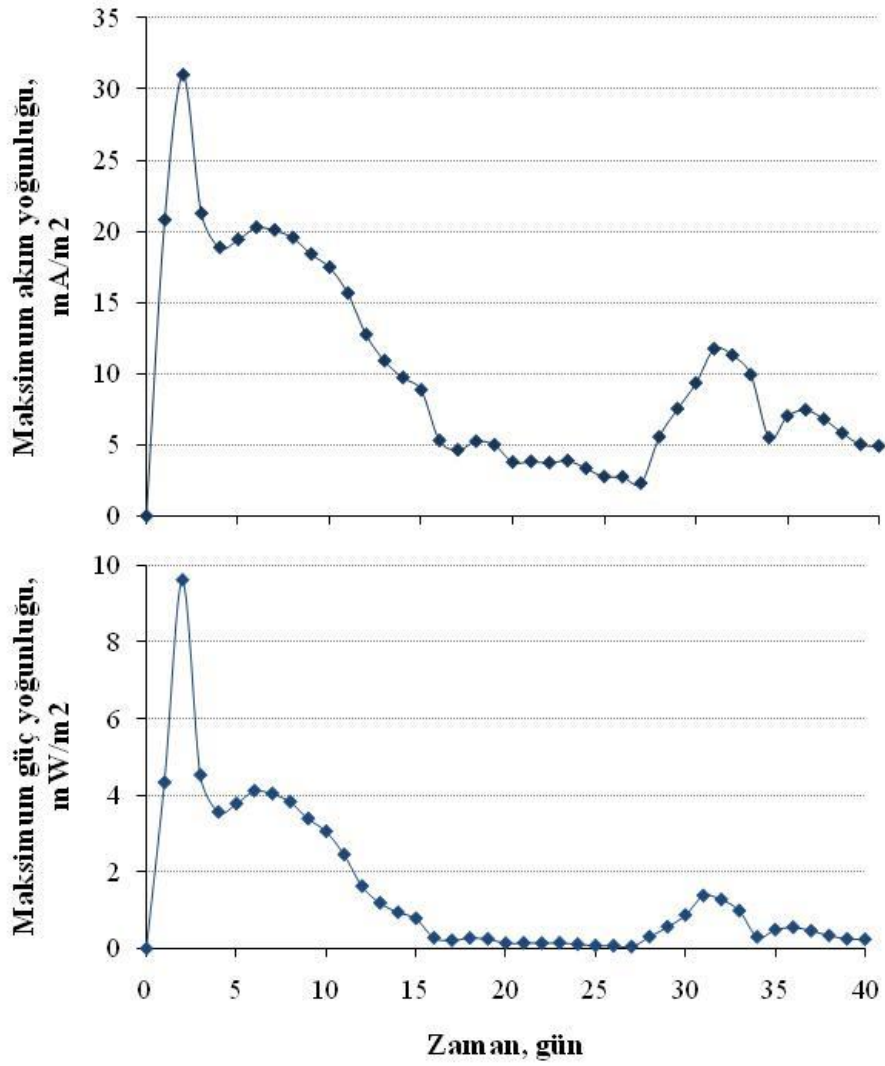
6.5 Grafit MYH ile Elde Edilen Elektriksel Sonuçlar

40 günlük işletme sonunda karbon elektrotlu MYH'den elde edilen akım, voltaj ve güç değerleri Şekil 6.12'de görülmektedir. Buna göre elde edilen maksimum akım 0,031 mA, maksimum voltaj 0,31 mV ve maksimum güç 0,0096 mW'tır. Bu değerlere MYH'yi devreye aldıktan 2 gün sonra 50 mM glikoz konsantrasyonunda ulaşılmıştır. Takip eden günlerde 75 mM, 40 mM ve 25 mM konsantrasyonlarında besleme yapılmıştır. Bu süre zarfında üretilen voltaj düşmeye devam etmiştir. 28. günden itibaren konsantrasyonun 50 mM'a yükselmesiyle akım da yükselmeye başlamıştır. Ortalama 0,075 mV maksimum voltajla 40 gün süren kesikli çalışma sonlandırılmıştır.

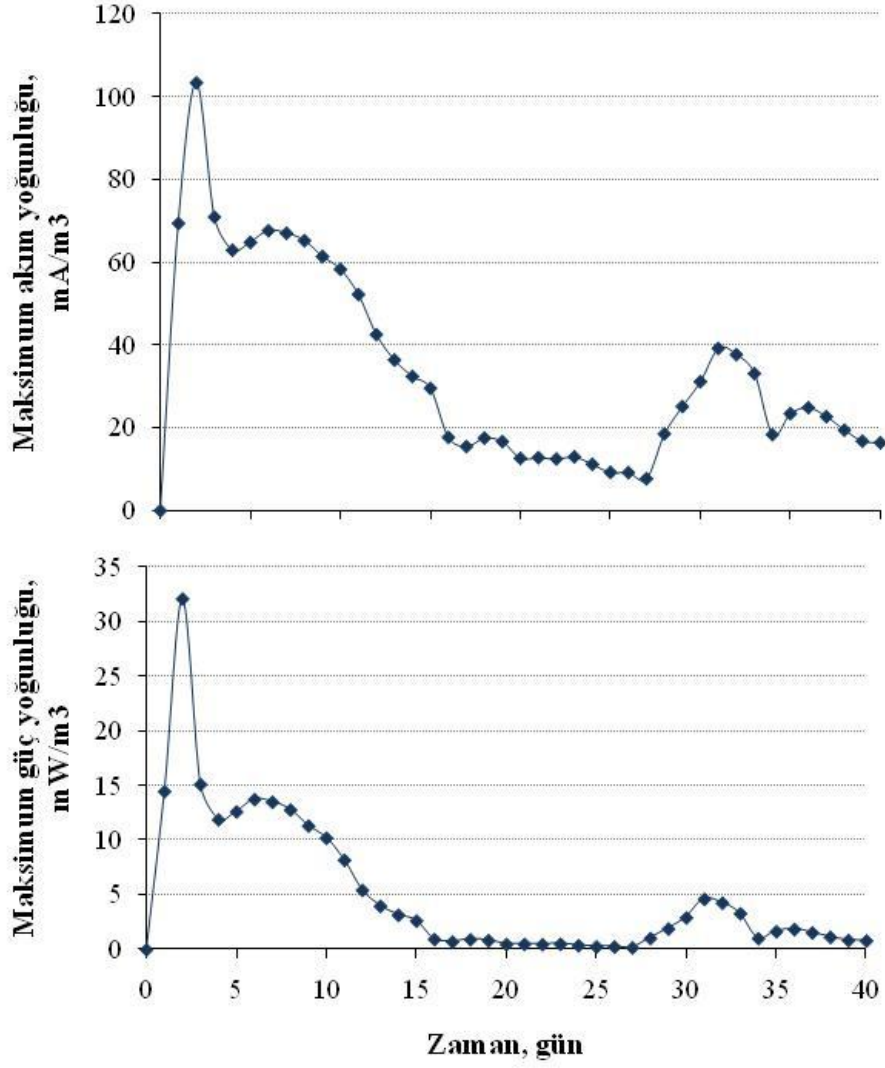


Şekil 6.12 Günlük max değerlerle voltaj, akım ve güç değerleri

Reaktörde elde edilen maksimum akım ve güç yoğunluğu, 50 mM glikoz konsantrasyonunda elde edilmiş olup sırayla 31 mA/m^2 (103 mA/m^3) ve $9,6 \text{ mW/m}^2$ (32 mW/m^3)'dir (Şekil 6.13, Şekil 6.14). Reaktörü devreye aldıktan 8 gün sonra 75 mM konsantrasyonu için maksimum akım ve güç yoğunlukları sırayla $19,57 \text{ mA/m}^2$ ve $3,83 \text{ mW/m}^2$ 'dir. Konsantrasyonun 40 mM'a düşmesiyle elde edilen maksimum akım ve güç yoğunlukları da sırayla $10,92 \text{ mA/m}^2$ ve $1,19 \text{ mW/m}^2$ 'ye düşmüştür. İşletmenin 17. gününde glikoz konsantrasyonu 25 mM'a düşürülmüştür. Akım ve güç yoğunlukları da benzer şekilde düşerek sırayla $5,26 \text{ mA/m}^2$ ve $0,28 \text{ mW/m}^2$ olarak hesaplanmıştır.

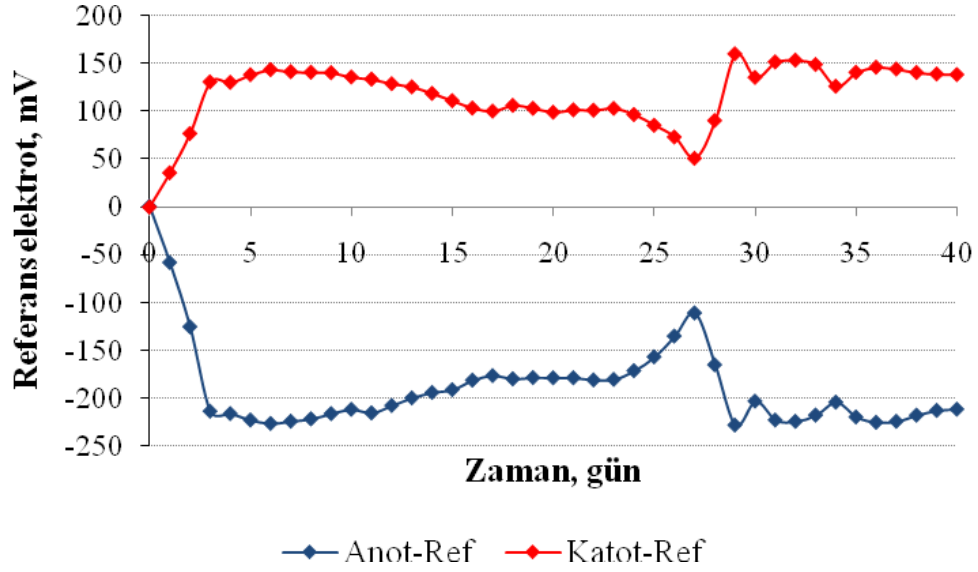


Şekil 6.13 Günlük maksimum değerlerle alana bağlı akım ve güç yoğunlukları



Şekil 6.14 Günlük maksimum değerlerle hacime bağlı akım ve güç yoğunlukları

Karbon reaktörüne ait çalışma boyunca ölçülen anodik ve katodik oksidasyon redüksiyon potansiyelleri Şekil 6.15'te görülmektedir. Buna göre kesikli çalışmaların başladığı ilk günlerde ORP -50mV ve 50mV değerleri arasındadır. 4 gün sonra sistemde anaerobik ve aerobik şartlar sağlanmış olup ORP değerleri -200 mV ve 150 mV değerlerine yükselmiştir. Takip eden günlerde de ortam şartlarındaki kararlılık devam etmiştir. Yaklaşık 40 gün süren kesikli çalışma boyunca ORP, -240 mV ile 175 mV arasında değerler almıştır.



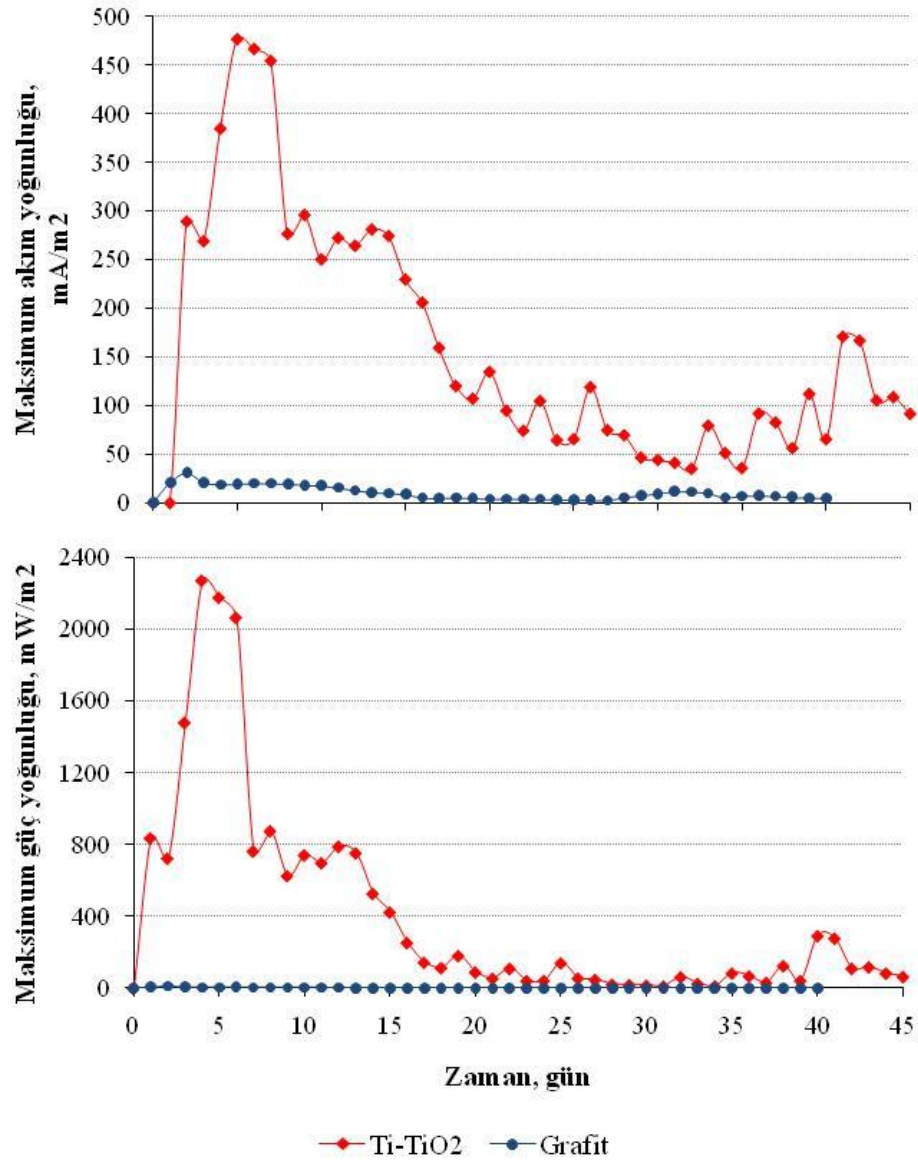
Şekil 6.15 Grafit MYH'ye ait Anot – Katot bölmelerinin oksidasyon redüksiyon potansiyelleri

6.6 Elektrot Performanslarının Karşılaştırılması

İki elektrot arasındaki performansı kıyaslayacak olursak Şekil 6.16'dan da görüleceği gibi Ti-TiO₂ MYH'de dalgalanmalar olsa da grafit elektrotlu MYH'ye göre oldukça yüksek akım ve güç yoğunlukları elde edilmiştir.

Ti-TiO₂ MYH'nin performansı 15.günden sonra düşmeye başlamıştır. Bu düşüş, glikoz konsantrasyonunun 50 mM'dan 75 mM'a çıkarıldığı zamanlarda gerçekleşmiştir. Membranın tıkanmaya başlaması sonucu düşük akım elde edildiği düşünülmektedir. Anot bölgesinde üretilen protonların katot bölgesine geçememesi sonucu, elektrik üretimi için gerekli devre tamamlanmış olmaktadır. Yapılan pH analizi sonucunda da anot bölgesinde biriken H⁺ iyonları olduğu görülmüştür. Ayrıca UYA analizi sonuçlarına göre ortamda yağ asitleri birikmektedir. Bu da akımın düşmesine neden olmaktadır.

Grafit MYH'de ise düşük akım yoğunluğu elde edilmesine rağmen, sistemin kararlı bir yapıda olduğu görülmüştür. Çalışmada elde edilen akım ve güç yoğunluklarına yakın değerler literatürdeki bazı çalışmalarda mevcuttur [12, 57].



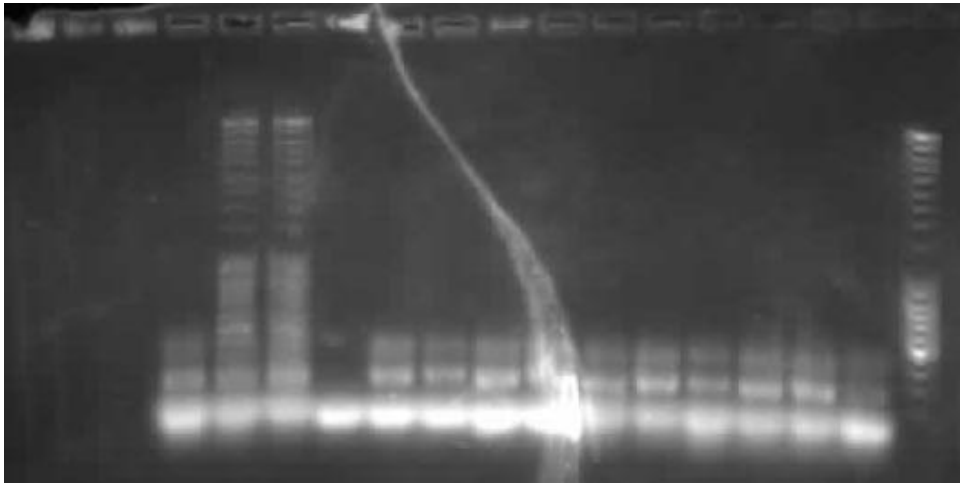
Şekil 6.16 Elektrot performanslarının karşılaştırılması

Çizelge 6.3 İki farklı elektrot türü ile elde edilen sonuçlar

Parametre	Elektrot türü	
	Ti-TiO ₂	Karbon
Voltaj, mV	4,77	0,31
Akım, mA	0,47	0,031
Güç, mW	2,27	0,0096
Akım yoğunluğu (mA/m ²)	477	31
Akım yoğunluğu (mA/m ³)	1590	103
Güç yoğunluğu (mW/m ²)	2272	9,6
Güç yoğunluğu (mW/m ³)	7574	32

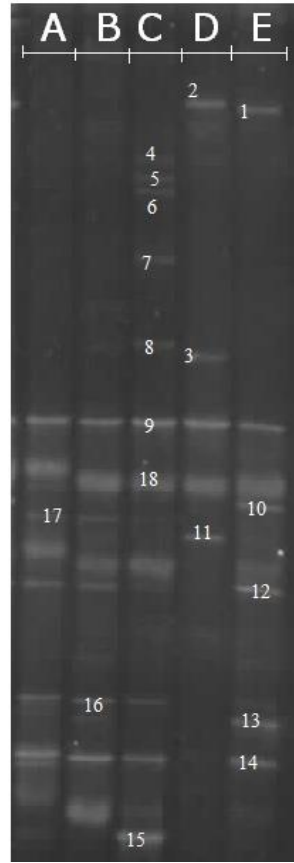
6.7 Mikrobiyal Tür Analizi Sonuçları

Ti-TiO₂ ve grafit reaktörlerinden alınan numuneler ve zenginleştirilmiş haliç kültüründen alınan örnek ile yapılan DNA ekstraksiyonundan sonra numuneler PCR işlemine tabii tutulmuştur. Bu işlemden sonra örneklerde kültür olup olmadığına agaroz jel yöntemi ile bakılmıştır (Şekil 6.17). Ardından DGGE analizi ile türler birbirinden ayırt edilmiştir. Şekil 6.18’da görülen harfler analizi yapılan numuneleri, numaralar ise ayrı bir türü temsil etmektedir. Buna göre bir numunede birden fazla tür olduğu görülmektedir. Bantlar kesilerek dizi analizi yapılmıştır. Buna göre numunelerdeki türler belirlenmiştir (Çizelge 6.4).



Şekil 6.17 PCR sonrası agaroz jel görüntüsü

Elde edilen türler literatürdeki MYH çalışmalarıyla oldukça uyumludur. Çizelge 6.4’e bakıldığında reaktör içinde baskın türün *Enterococcus sp.* olduğu görülmektedir. Yapılan bir çalışmada *Enterococcus*’un bir laktik asit bakterisi olduğu ve anaerobik şartlar altında glikozu büyük oranda laktata dönüştürdüğü görülmüştür [58]. Rabaey vd. [20] karbon kaynağı olarak glikoz kullandıkları çalışmalarında ortamda *Enterococcus gallinarum* bulunduğunu tespit etmişlerdir. Numunelerde bulunan bir diğer tür olan *Shewanella* (%91) ise laktat ve pürivat gibi organik asitleri anaerobik şartlarda asetata dönüştürmektedir [59]. *Vagococcus fluvialis* (%96) de *Enterococcus* gibi bir laktik asit bakterisidir [60, 61].

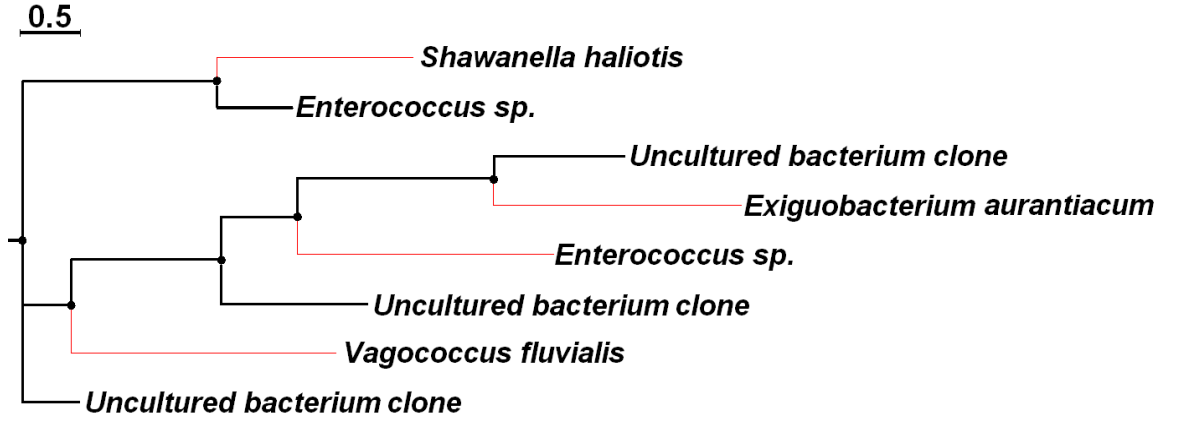


Şekil 6.18 DGGE profili (A: Karbon elektrotlu MYH, B: Ti-TiO₂ elektrotlu MYH, C: Zenginleştirilmiş Haliç numunesi, D: Ti-TiO₂ elektrotlu MYH, E: Ti-TiO₂ elektrotlu MYH, B, D ve E numuneleri reaktörden farklı zamanlarda alınmıştır.)

Çizelge 6.4 DGGE bantlarının sekans sonuçları

Bant no	Tür	Erişim No	Benzerlik
1-2	<i>Uncultured bacterium clone</i>	AY483165	%98
3	<i>Exiguobacterium aurantiacum</i>	FN997628	%91
4	<i>Vagococcus fluvialis</i>	FN997619	%96
5	<i>Shewanella haliotis</i>	FN997626	%90
6	<i>Uncultured bacterium clone</i>	AY483171	%96
9	<i>Enterococcus sp.</i>	AY489118	%99
11	<i>Enterococcus sp.</i>	AY489118	%95
13	<i>Enterococcus sp.</i>	FN997607	%95
14	<i>Shewanella haliotis</i>	FN997626	%91
15	<i>Shewanella haliotis</i>	FN997626	%91
16	<i>Uncultured bacterium clone</i>	EU704562	%94
18	<i>Enterococcus sp.</i>	AY489118	%97
19	<i>Enterobacter sp.</i>	FN997607	%94

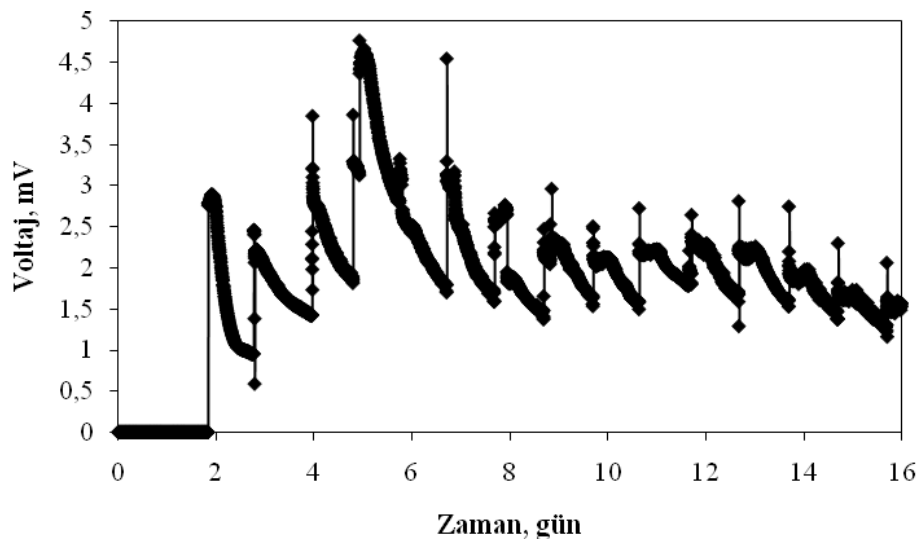
MYH’lerde etkin rol alan mikroorganizmalara ait filojeni UGENE 1.9.1 (Unipro UGENE: Integrated Bioinformatics Tools) programı ile analiz edilerek, filojenik ağaç oluşturulmuştur (Şekil 6.19).



Şekil 6.19 MYH’de etkin rol alan organizmalara ait filojenik ağaç

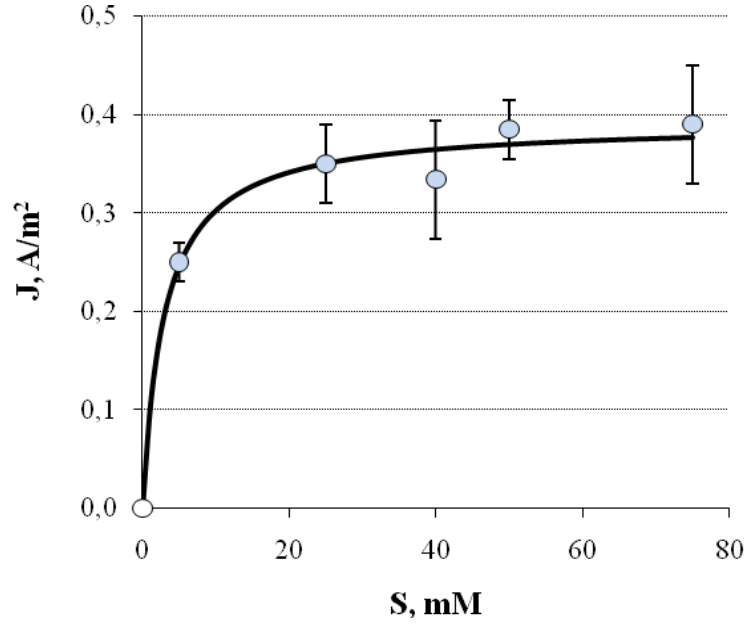
6.8 Kinetik Modelleme Sonuçları

Kinetik modelleme, Ti-TiO₂ MYH’yi devreye aldıktan sonraki 15 günlük veriler için yapılmıştır. Şekil 6.20’de modellemenin yapıldığı veriler gösterilmiştir. Buna göre, reaktörü devreye aldıktan sonra 2 gün boyunca akım elde edilmediği, 2. günün sonunda üretilen voltajın pik değere ulaştığı görülmektedir. Daha sonra substrat tüketimine bağlı olarak voltaj düşmüştür. Reaktörden elde edilen maksimum voltaj 4,77 mV olup, bu değer işletmenin 5. gününde elde edilmiştir.



Şekil 6.20 Ti-TiO₂ MYH’de 16 günlük voltaj üretimi

Şekil 6.21’de substrat konsantrasyonuna karşı elde edilen akım yoğunluğunu gösteren eğri verilmiştir.



Şekil 6.21 Substrat konsantrasyonuna karşı akım yoğunluğu (A/m^2) için elde edilen eğri Faraday sabiti, $F= 96.485$; İdeal gaz sabiti, $R= 8.3145$; Sıcaklık, $T= 298$ K; Anot elektrota transfer olan elektron sayısı, $\eta= 0.35$; %95 güven aralığında doğrusal olmayan bir eğri üzerinde oturtulmuştur MATLAB® (R2009b). R^2 : 0.98. Çizelge 6.5’te kinetik katsayılar verilmiştir.

Çizelge 6.5 Ti-TiO₂ MYH için elde edilen kinetik katsayılar

Katsayı	Birim	Değer
K_S	mM	2,93
J_{max}	A/m^2	0,39
H	-	0,35

Model sonucu elde edilen kinetik katsayılar göre akım yoğunluğu,

$$J=0.39 \left(\frac{S}{2.93+S} \right) \left(\frac{1}{1+\exp \left[-0.35 \frac{96.485}{8.3145 \times 298} \right]} \right)$$

şeklinde ifade edilmiştir.

6.9 Değerlendirmeler

Çizelge 6.6 ve 6.7'den de görüleceği gibi çalışmada elde edilen akım ve güç yoğunlukları literatürdeki birçok çalışmayla benzerlik göstermektedir. Ti-TiO₂ MYH ile elde edilen maksimum güç yoğunluğu (2272 mW/m²) diğer çalışmalara göre oldukça yüksektir.

Çizelge 6.6 Literatür çalışmalarının özeti

Substrat/Atıksu	MYH tipi	Anot malz.	Katot malz.	Membran tipi	Sıcaklık (°C)	Direnç (Ω)	Güç yoğunluğu	Referans
Domuz atıksuyu	Tek bölmeli	Karbon kağıt	Pt kaplanmış karbon kağıt	Nafion 117	30	200	261mW/m ²	[42]
	2 bölmeli						45mW/m ²	
Nişasta işleme atıksuyu	Hava katot tek bölmeli	Karbon kağıt	Pt kaplanmış karbon kağıt	Nafion 117	30	120	239,4mW/m ²	[22]
Asetat	2 bölmeli	Karbon keçe	Gözenekli titanyum plaka	Nafion 117	28	100	64,3mW/m ²	[34]
Bütirat							51,4mW/m ²	
Propiyonat							58mW/m ²	
Glikoz							156mW/m ²	
Peyniraltı atıksuyu	2 bölmeli	Karbon fiber kağıt	Pt kaplanmış karbon kumaş	Nafion 117	35,5	100	18,4mW/m ²	[12]
Glikoz						2000	15,2mW/m ²	
Laktoz						2000	17,2mW/m ²	
Asetat	Tek bölmeli	Grafite fiber fırça	Pt kaplanmış grafit fiber	Membransız	30	1000	42 W/m ³	[41]
Evsel atıksu							60 W/m ³	
Evsel atıksu(ön çöktürme çıkışı)	Hava katot tek bölmeli	Grafite fiber fırça	Grafite fiber fırça	Membransız	30 ± 1	500	422mW/m ²	[6]
Bira fabrikası atıksuyu	Hava katot tek bölmeli	Karbon kumaş	Pt kaplanmış karbon kumaş	Membransız	30	1000	205mW/m ²	[49]
					20		170mW/m ²	
Fermente edilmiş atıksu	Hava katot tek bölmeli	Granüler aktif karbon	Karbon kumaş	Membransız	35	-	2981mW/m ³	[62]
Asetat							3664mW/m ³	
Asetat	Perdeli	Grafite granül	Grafite granül	CMI 7000	22 ± 3	10	258W/m ³	[25]

Çizelge 6.6 Devamı

Substrat/Atıksu	MYH tipi	Anot malz.	Katot malz.	Membran tipi	Sıcaklık (°C)	Direnç (Ω)	Güç yoğunluğu	Referans
Sükroz	Yukarı akışlı iki bölmeli	RVC (karbon sünger)	RVC (karbon sünger)	CMI 7000	35	84	170 mW/m ²	[43]
Asetat	Hava katot tek bölmeli	Karbon keçe	Karbon keçe	Nafion 115	-	-	3650mW/m ²	[63]
Evsel atıksu(ön çöktürme çıkışı)	2 bölmeli	Karbon kağıt	Pt kaplanmış karbon kağıt	Nafion 117	30	178	190mW/m ²	[32]
Sükroz	2 bölmeli	Grafit çubuk	Grafit çubuk	Membransız	31 ± 2	900-1200	10,9mW/m ²	[64]
Sızıntı suyu	İki bölmeli	Aktif karbon	Aktif karbon	Nafion 112	30	1400	2060,19 mW/m ³	[48]
	Tek bölmeli	Karbon kağıt	Pt kaplanmış karbon kumaş			150	6817,4 mW/m ³	
Sızıntı suyu	Kolon tip	Karbon kaplama	Karbon kaplama	Proton değiştirici membran	-	-	1822 µW/cm ²	[65]
Sızıntı suyu	İki bölmeli-membransız	Karbon kaplama	Karbon kaplama	Kasyon değiştirici membran	-	500	1,38±0,24mW/m ²	[66]
Sızıntı suyu	Hava katot tek bölmeli	Grafit granül	Pt kaplanmış karbon kumaş	Nafion 117	23±2	4610	344 mW/m ³	[46]
Sızıntı suyu	Yukarı akışlı hava katot	-	-	Membransız	-	-	12,8 W/m ³	[67]

Çizelge 6.7 Glikozla yapılan çalışmaların mukayesesi

Substrat	MYH Tipi	Anot elektrot	Katot elektrot	Membran	Direnç (Ω)	Güç yoğunluğu	Referans
Glikoz	Tek bölmeli	Karbon keçe	Karbon keçe	-	1000	41,8 mW/m ²	[11]
Glikoz	Tek bölmeli	Karbon kağıt	Karbon kumaş	Membransız	1000	381 mW/m ²	[21]
				Nafion 117		173 mW/m ²	
Glikoz	İki bölmeli	Karbon kağıt	Karbon kağıt	Nafion 117	567	28 mW/m ²	[40]
Glikoz	İki bölmeli	Karbon keçe	Aktif karbon fiber keçe	Membransız	53	392 mW/m ²	[28]
Glikoz	İki bölmeli	Grafit	Grafit	Ultrex	100	4,31 W/m ²	[20]
Glikoz	Tek bölmeli	Karbon kumaş	Karbon kumaş		120	2160 mW/m ²	[59]
Glikoz	İki bölmeli	Grafit plaka	Grafit plaka	Membransız	125	3,3 mW/m ²	[57]
Glikoz	İki bölmeli	Karbon keçe	Gözenekli Ti plaka	Nafion 117	100	156 mW/m ²	[34]
Glikoz	İki bölmeli	Karbon fiber kağıt	Karbon kumaş	Nafion 117	100	15,2 mW/m ²	[12]
Glikoz	İki bölmeli	Ti-TiO ₂	Ti-TiO ₂	CMI-7000	10	2272 mW/m ²	Bu çalışma
		Karbon	Karbon			10 mW/m ²	

SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Tez çalışması kapsamında farklı kültür örnekleri ile karbon kaynağı olarak glikozun kullanıldığı besiyerinde zenginleştirme çalışmaları yapılmıştır. İki farklı elektrot türünün kullanıldığı mikrobiyal yakıt hücreleri devreye alınarak, bu sistemlerin elektrik üretim performansları incelenmiştir. Elektriksel ve biyolojik faktörler göz önüne alınarak biyoelektrokimyasal kinetik denklem lineer olmayan regresyonla çözülmüş ve kinetik katsayılar elde edilmiştir. Son olarak da moleküler teknikler kullanılarak MYH'lerdeki tür profili belirlenmiştir. Yapılan çalışmaların sonuçları aşağıdaki gibidir:

- Haliç dip çamuru, Denizli Karahayıt Kaplıcası çamuru ve İstanbul Kemerburgaz Kompost ve Geri Kazanım Tesisi'nden alınan kompost örnekleriyle, farklı sıcaklıklarda yapılan kültür zenginleştirme çalışmalarında elde edilen biyogaz miktarlarına göre en iyi kültürün, oda sıcaklığında zenginleştirilen Haliç dip çamuru olduğu görülmüştür. Zenginleştirme yapılan şişelerdeki besiyeri içeriği aynı olduğundan dolayı, biyolojik aktiviteyi karşılaştırmak için oluşan biyogaz miktarına bakılmıştır. Devreye alınacak olan MYH'lere aşî kültürü olarak karbon kaynağı glikoz olan sentetik atıksuda zenginleştirilmiş Haliç dip çamuru eklenmiştir.
- Anot ve katot elektrot olarak titanyum kaplamalı titantum dioksitin kullanıldığı MYH'de 45 gün süren kesikli beslemeli işletme sonunda elde edilen maksimum akım yoğunluğu 477 mA/m^2 , maksimum güç yoğunluğu 2272 mW/m^2 'dir. Bu değerlere reaktörü devreye aldıktan 4 gün sonra, 50 mM glikoz konsantrasyonunda ulaşılmıştır.
- Grafit elektrotun kullanıldığı MYH'de ise 40 gün süren kesikli beslemeli işletme sonunda elde edilen maksimum akım yoğunluğu 31 mA/m^2 ve maksimum güç

yoğunluğu $9,6 \text{ mW/m}^2$ 'dir. Bu değerlere reaktörü devreye aldıktan 2 gün sonra, 50 mM glikoz konsantrasyonunda ulaşılmıştır.

– Farklı glikoz konsantrasyonları için reaktörlerin güç üretim performansları incelenmiştir. Buna göre Ti-TiO₂ MYH'de işletmeye aldıktan 13 gün sonra 75 mM glikoz beslendiğinde elde edilen maksimum akım ve güç yoğunlukları sırasıyla 274 mA/m^2 ve 754 mW/m^2 'dir. Glikoz konsantrasyonunun 17.günden sonra 40 mM'a düşmesiyle oluşan maksimum akım ve güç yoğunlukları sırayla 135 mA/m^2 ve 182 mW/m^2 'ye düşmüştür. Akımın düşmesiyle birlikte, membranın tıkanmış olma ihtimaline karşı ve mikroorganizmaları şok yüke maruz bırakmamak için 22.gün konsantrasyon 25 mM'a düşürülmüştür. Bu konsantrasyonda elde edilen maksimum akım ve güç yoğunluğu 119 mA/m^2 ve 142 mW/m^2 'ye düşmüştür. Bu noktadan sonra konsantrasyon tekrar 50 mM'a çıkartılmıştır. Ardından 40 mM'a düşürülmüştür ve tekrar 50 mM'a çıkarılarak çalışma sonlandırılmıştır.

– Grafit elektrotun kullanıldığı MYH'de üretilen akım ve güç yoğunlukları her bir konsantrasyon için Ti-TiO₂'den daha düşüktür. 75 mM için maksimum akım ve güç yoğunluğu işletmeye alındıktan 8 gün sonra elde edilmiş olup sırayla $19,57 \text{ mA/m}^2$ ve $3,83 \text{ mW/m}^2$ 'dir. Konsantrasyonun 40 mM'a düşmesiyle elde edilen maksimum akım ve güç yoğunlukları sırayla $10,92 \text{ mA/m}^2$ ve $1,19 \text{ mW/m}^2$ 'ye düşmüştür. 17. gün glikoz konsantrasyonu 25 mM'a düşürülmüştür. Akım ve güç yoğunlukları da benzer şekilde düşerek sırayla $5,26 \text{ mA/m}^2$ ve $0,28 \text{ mW/m}^2$ olarak hesaplanmıştır.

–MYH'lerdeki ve Haliç dip çamuru ile zenginleştirilmiş kültürdeki tür profilinin belirlenmesi için yapılan moleküler analizler sonucunda sistemde baskın türün *Enterococcus sp.* (%99) olduğu tespit edilmiştir. Ortamda bulunan diğer türler ise *Shewanella haliotis* (%91) ve *Vagococcus fluvialis* (%96)'dir.

–Yapılan çalışmalar bu bakterilerin laktik asit bakterisi olduğunu ve anaerobik şartlarda glikozu büyük oranda laktata çevirdiklerini göstermektedir. Yapılan uçucu yağ analizi sonuçları da bu bilgiyi doğrular niteliktedir. Analiz sonucu elde edilen asetik asit, propiyonik asit, bütirik asit, izo kaproik asit, kaprilik asit ve dekanoik asit konsantrasyonlarına bakıldığında, asetik asitin en yüksek konsantrasyona sahip olduğu görülmektedir. Zamana bağlı olarak reaktörde biriktiği görülmektedir. Ancak zamanla yükselen TOK konsantrasyonu ile

karşılaştırıldığında birikimin nedeninin sadece asetat olmadığı anlaşılmaktadır. Ortamdaki mevcut mikroorganizmaların belirlenmesinin ardından glikozun sistemde laktata dönüşerek biriktiği düşünülmektedir.

–Ti-TiO₂ MYH’yi devreye aldıktan sonraki 15 gün boyunca elde edilen verilere Nerst-Monod eşitliği kullanılarak biyo-elektrokimyasal kinetik uygulanmış, substrat konsantasyonu ile akım yoğunluğu arasındaki ilişkiyi gösteren eğri elde edilmiştir. Buna göre bulunan kinetik katsayılar $K_s=2,93$ mM, $\eta=0,35$ ve $J_{max}=0,39$ A/m²’dir.

–Ti-TiO₂ elektrotla Grafit elektrota göre yaklaşık 15 kat daha fazla akım yoğunluğu elde edilmiştir. Grafit elektrotla üretilen güç yoğunluğunu arttırmak için elektrotu platin gibi, MYH literatüründe etkisi kanıtlanmış bir katalizörle kaplamak uygun olabilir.

KAYNAKLAR

- [1] Pant, D., Bogaert, G.V., Diels, L. ve Vanbroekhoven, K., (2010). “A Review of The Substrates Used in Microbial Fuel Cells (MFCs) for Sustainable Energy Production”, *Bioresource Technology*, 101:1533-1543.
- [2] Logan, B.E., (2008). *Microbial Fuel Cells*, John Wiley& Sons, New York.
- [3] Watanabe, K., (2008). “Recent Developments in Microbial Fuel Cell Technologies for Sustainable Bioenergy”, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 106:528-536.
- [4] Pham, T.H., Rabaey, K., Aelterman, P., Clauwaert, P., De Schampelaire, L., Boon, N. ve Verstraete, W., (2006). “Microbial Fuel Cells in Relation to Conventional Anaerobic Digestion Technology”, *Engineering Life Science*, 6:3. [5] T.C. Orman Genel Müdürlüğü, Yeniden Yapılanma ve Norm Kadro Projesi, www.ogm.gov.tr, 11 Mart 2003.
- [5] Scopus, www.scopus.com, 26 Mayıs 2011.
- [6] Ahn, Y. ve Logan, B.E., (2010), “Effectiveness of Domestic Wastewater Treatment Using Microbial Fuel Cells at Ambient and Mesophilic Temperatures”, *Bioresource Technology*, 101:469-475.
- [7] Rittmann, B.E. ve McCarty, P.L., (2001). *Environmental Biotechnology: Principles and Applications*, McGraw-Hill, Singapore.
- [8] Metcalf ve Eddy, (2003). *Wastewater Engineering Treatment and Reuse*, Tata McGraw-Hill, New Delhi.
- [9] Madigan, M.T. ve Martinko, J.M., (2006). *Biology of Microorganisms*, Pearson Prentice Hall, 11. Baskı.
- [10] Du, Z., Li, H. ve Gu, T., (2007). “A State of Art Review on Microbial Fuel Cells: A Promising Technology for Wastewater Treatment and Bioenergy”, *Biotechnology Advances*, 25:464-482.
- [11] Liu, M., Yuan, Y., Zhang, L., Zhuang, L., Zhou, S. ve Ni, J., (2010). “Bioelectricity Generation by a Gram-Positive *Corynebacterium* sp. Strain MFCO3 under Alkaline Condition in Microbial Fuel Cells”, *Bioresource Technology*, 101:1807–1811.
- [12] Antonopoulou, G., Stamatelatou, K., Bebelis, S. ve Lyberatos, G., (2010). “Electricity Generation from Synthetic Substrates and Cheese Whey Using a

- Two Chamber Microbial Fuel Cell”, *Biochemical Engineering Journal*, 50:10-15.
- [13] Rabaey, K. ve Verstraete, W., (2005). “Microbial Fuel Cells: Novel Biotechnology for Energy Generation”, *Trends in Biotechnology*, 23:291-298.
 - [14] Özkaya, B., Karadağ, D., Akoğlu, B., Acı, G., Taskan, E. ve Hasar, H., (2010). “Electricity Generation in MFC Using Selective Membrane”, *IWA Regional Conference and Exhibition 18-22 October 2010 on Membrane Technology & Water Reuse Istanbul-Turkey*, 1222-1227.
 - [15] Çallı, B., Çavdar, P. ve Yılmaz, E., (2010). “Mikrobiyal Yakıt Pili Teknolojisi”, *Türkchem, Ocak-Şubat*, 72-76.
 - [16] Reguera, G., McCarthy, K.D., Mehta, T., Nicoll, J.S., Tuominen, M.T. ve Lovley, D.R., (2005). “Extracellular Electron Transfer via Microbial Nanowires”, *Nature*, 435:1098-1101.
 - [17] Bond, D.R. ve Lovley, D.R., (2003). “Electricity Production by *Geobacter Sulfurreducens* Attached to Electrodes”, *Applied and Environmental Microbiology*, 69:1548-1555.
 - [18] Monier, J.M., Niard, L., Haddour, N., Allard, B. ve Buret, F., (2008). “Microbial Fuel Cells: From Biomass (Waste) to Electricity”, *IEEE Xplore*, 663-668.
 - [19] Drapcho, C.M., Nhuan, N.P. ve Walker, T.H., (2008). *Biofuels Engineering Process Technology*, McGraw-Hill.
 - [20] Rabaey, K., Boon, N., Siciliano, S.D., Verhaege, M. ve Verstraete, W., (2004). “Biofuel Cells Select for Microbial Consortia That Self-Mediate Electron Transfer”, *Applied and Environmental Microbiology*, 70 (9): 5373-5382.
 - [21] Liu, H. ve Logan, B.E., (2004). “Electricity Generation Using an Air-Cathode Single Chamber Microbial Fuel Cell in The Presence and Absence of a Proton Exchange Membrane”, *Environmental Science and Technology*, 38:4040-4046.
 - [22] Lu, N., Zhou, S.g., Zhuang, L., Zhang, J.t. ve Ni, J.r., (2009). “Electricity Generation from Starch Processing Wastewater Using Microbial Fuel Cell”, *Biochemical Engineering Journal*, 43:246-251.
 - [23] Logan, B.E., Hamelers, B., Rozendal, R., Schröder, U., Keller, J., Freguia, S., Aelterman, P., Verstraete, W. ve Rabaey, K., (2006), “Microbial Fuel Cells; Methodology and Technology”, 40, 17: 5181-5190.
 - [24] Chaudhuri, S.K. ve Lovley, D.R., (2003). “Electricity Generation by Direct Oxidation of Glucose in Mediatorless Microbial Fuel Cells”, *Nature Biotechnology*, 1-4.
 - [25] Aelterman, P., Rabaey, K., Pham, H.T., Boon, N. ve Verstraete, W., (2006). “Continuous Electricity Generation at High Voltages and Currents Using Stacked Microbial Fuel Cells”, *Environmental Science and Technology*, 40:3388-3394.
 - [26] Rabaey, K., van de Sompel, K., Maignien, L., Boon, N., Aelterman, P., Clauwaert, P., de Schamphelaire, L., Pham, H.T., Vermeulen, J., Verhaere, M.,

- Lens, P. ve Verstraete, W., (2006). "Microbial Fuel Cells for Sulfide Removal", *Environmental Science and Technology*, 40:5218-5224.
- [27] Cheng, S., Xing, D. ve Logan, B.E., (2011). "Electricity Generation of Single-Chamber Microbial Fuel Cells at Low Temperatures", *Biosensors and Bioelectronics*, 26:1913-1917.
- [28] Deng, Q., Li, X., Zuo, J., Ling, A. ve Logan, B.E., (2010). "Power Generation Using an Activated Carbon Fiber Felt Cathode in an Upflow Microbial Fuel Cell", *Journal of Power Sources*, 195:1130-1135.
- [29] Clauwaert, P., Rabaey, K., Aelterman, P., De Schamphelaire, L., Pham, T.H., Boeckx, P., Boon, N. ve Verstraete, W., (2007a). "Biological denitrification in microbial fuel cells", *Environmental Science and Technology*, 41:3354–3360.
- [30] Clauwaert, P., Van der Ha, D., Boon, N., Verbeken, K., Verhaege, M., Rabaey, K. ve Verstraete, W., (2007b). "Open Air Biocathode Enables Effective Electricity Generation with Microbial Fuel Cells", *Environmental Science and Technology*, 41:7564–7569.
- [31] Chen, G.W., Choi, S.J., Lee, T.H., Lee, G.Y., Cha, J.H. ve Kim, C.W., (2008). "Application of Biocathode in Microbial Fuel Cells: Cell Performance and Microbial Community", *Applied Microbial Biotechnology*, 79:379-388.
- [32] Oh, S.E. ve Logan, B.E., (2006). "Proton Exchange Membrane and Electrode Surface Areas as Factors that Affect Power Generation in Microbial Fuel Cells", *Biotechnological Products and Process Engineering*, 70:162-169.
- [33] Li, W.W., Sheng, G.P., Liu, X.W. ve Yu, H.Q., (2011). "Recent Advances in The Separators for Microbial Fuel Cells", *Bioresource Technology*, 102:244-252.
- [34] Chae, K.J., Choi, M.J., Lee, J.W., Kim, K.Y. ve Kim, I.S., (2009). "Effect of Different Substrates on the Performance, Bacterial Diversity and Bacterial Viability in Microbial Fuel Cells", *Bioresource Technology*, 100:3518-3525.
- [35] Rabaey, K., Clauwaert, P., Aelterman, P. ve Verstraete, W., (2005). "Tubular Microbial Fuel Cells for Efficient Electricity Generation", *Environmental Science and Technology*, 39:8077-8082.
- [36] Jadhav, G.S. ve Ghangrekar, M.M., (2009). "Performance of Microbial Fuel Cell Subjected to Variation in pH, Temperature, External Load and Substrate Concentration", *Bioresource Technology*, 100:717-723.
- [37] Kim, J.R., (2006). *Development of Microbial Fuel Cells (MFCs) Using Efficient Acclimation and Various Substrates*, The Penn State University.
- [38] Harnisch, F., Schröder, U. ve Scholz, F., (2008). "The Suitability of Monopolar and Bipolar Ion Exchange Membranes as Separators for Biological Fuel Cells", *Environmental Science and Technology*, 42 (5) 1740-1746.
- [39] Rozendal, R.A., Hamelers, H.V.M. ve Buisman, C.J.N., (2006). "Effect of Membrane Cation Transport on pH and Microbial Fuel Cell Performance", *Environmental Science and Technology*, 40:5206-5211.
- [40] Thygesen, A., Poulsen, F.W., Min, B., Angelidaki, I. ve Thomsen, A.B., (2009). "The Effect of Different Substrates and Humic Acid on Power

- Generation in Microbial Fuel Cell Operation”, Bioresource Technology, 100:1186-1191.
- [41] Cheng, S. ve Logan, B.E., (2011). “Increasing Power Generation for Scaling up Single-Chamber Air Cathode Microbial Fuel Cells”, Bioresource Technology, 102:4468-4473.
- [42] Min, B., Kim, J.R., Oh, S.E., Regan, J.M. ve Logan, B.E., (2005). “Electricity Generation from Swine Wastewater Using Microbial Fuel Cells”, Water Research, 39:4961-4968.
- [43] He, Z., Minteer, S.D. ve Angenent, L.T., (2005). “Electricity Generation from Artificial Wastewater Using an Upflow Microbial Fuel Cell”, Environmental Science and Technology, 39:5262-5267.
- [44] Raghavulu, S.V., Mohan, S.V., Goud, R.K. ve Sarma, P.N., (2009). “Effect of Anodic pH Microenvironment on Microbial Fuel Cell (MFC) Performance in Concurrence with Aerated and Ferricyanide Catholytes”, Electrochemistry Communications, 11:371-375.
- [45] Oh, S., Min, B. ve Logan, B.E., (2004). “Cathode Performance as a Factor in Electricity Generation in Microbial Fuel Cell”, Environmental Science and Technology, 38:4900-4904.
- [46] Puig, S., Serra, M., Coma, M., Cabre, M., Balaguer, M.D. ve Colprim, J., (2011). “Microbial Fuel Cell Application in Landfill Leachate Treatment”, Journal of Hazardous Materials, 185:763-767.
- [47] Wen, Q., Wu, Y., Zhao, L. ve Sun, Q., (2010). “Production of Electricity from the Treatment of Continuous Brewery Wastewater Using a Microbial Fuel Cell”, Fuel, 89:1381-1385.
- [48] You, S.J., Zhao, Q.L., Jiang, J.Q., Zhang, J.N. ve Zhao, S.Q., (2006). “Sustainable Approach for Leachate Treatment: Electricity Generation in Microbial Fuel Cell”, Journal of Environmental Science and Health Part A, 41:2721-2734.
- [49] Feng, Y., Wang, X., Logan, B.E. ve Lee, H., (2008). “Brewery Wastewater Treatment Using Air-Cathode Microbial Fuel Cells”, Environmental Biotechnology, 78:873-880.
- [50] Pro-Tek Katodik Koruma Sistemleri, Dış Akım Anotlar, <http://www.protek-korozyon.com/>, 18 Ocak 2011.
- [51] Membranes International Inc., CMI-7000 Cation Exchange Membranes, <http://www.membranesinternational.com/tech-cmi.htm>
- [52] Fluke, Dijital Multimetreler, <http://www.fluke.com/fluke/trtr/bench-instruments/bench-multimeters/8845a-8846a.htm?PID=55451>, 7 Mart 2011.
- [53] Ceyhan, C.O., (2005), Polimeraz Zincir Reaksiyonu, <http://www.gazete.itu.edu.tr/mart/4genetik.pdf>, 15 Şubat 2011.
- [54] Sequences, Moleküler Genetik Yazıları, Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR): Çok güçlü bir teknik, <http://genotyping.wordpress.com/2007/03/07/polimeraz-zincir-reaksiyonu-pcr-cok-guclu-bir-teknik/>, 25 Mart 2011.

- [55] Lee, H.-S., Vermaas, W.J. ve Rittmann, B.E., (2010). "Biological Hydrogen Production: Prospects and Challenges", *Trends in Biotechnology*, 28(5):262-271.
- [56] Marcus, A.K., Torres, C.I. ve Rittmann, B.E., (2007). "Conduction-Based Modeling of the Biofilm Anode of a Microbial Fuel Cell", *Biotechnology and Bioengineering*, 98(6):1171-1182.
- [57] Rodrigo, M.A., Canizares, P., Garcia, H., Linares, J.J. ve Lobato, J., (2009). "Study of The Acclimation Stage and of The Biodegradability on The Performance of a Microbial Fuel Cell", *Bioresource Technology*, 100:4704-4710.
- [58] Kim, G.T., Hyun, M.S., Chang, I.S., Kim, H.J., Park, H.S., Kim, B.H., Kim, S.D., Wimpenny, J.W.T. ve Weightman, A.J., (2005). "Dissimilatory Fe(III) Reduction by an Electrochemically Active Lactic Acid Bacterium Phylogenetically Related to *Enterococcus gallinarum* Isolated from Submerged Soil", *Journal of Applied Microbiology*, 99:978-987.
- [59] Catal, T., Li, K., Bermek, H. ve Liu, H., (2008). "Electricity Production from Twelve Monosaccharides Using Microbial Fuel Cells", *Journal of Power Sources*, 175:196-200.
- [60] Jaffres, E., Sohier, D., Leroi, F., Pilet, M.F., Prevost, H., Joffraud, J.J. ve Dousset, X., (2009). "Study of The Bacterial Ecosystem in Tropical Cooked and Peeled Shrimps Using a Polyphasic Approach", *International Journal of Food Microbiology*, 131:20-29.
- [61] Teixeira, L.M., Carvalho, M.G.S., Merquior, V.L.C., Steigerwalt, A.G., Brenner, D.J. ve Facklam, R.R., (1997). "Phenotypic and Genotypic Characterization of *Vagococcus fluvialis*, Including Strains Isolated from Human Sources", *Journal of Clinical Microbiology*, 35:2778-2781.
- [62] Nam, Y.-J., Kim, H.-W., Lim, K.-H. ve Shin, H.-S., (2010). "Effect of Organic Loading Rates on The Continuous Electricity Generation from Fermented Wastewater Using a Single-Chamber Microbial Fuel Cell", *Bioresource Technology*, 101:S33-S37.
- [63] Borole, A.P., Hamilton, C.Y., Vishnivetskaya, T., Leak, D. ve Andras, C., (2009). "Improving Power Production in Acetate-fed Microbial Fuel Cells Via Enrichment of Exoelectrogenic Organisms in Flow-Through Systems", *Biochemical Engineering Journal*, 48:71-80.
- [64] Ghangrekar, M.M. ve Shinde, V.B., (2007). "Performance of Membrane-less Microbial Fuel Cell Treating Wastewater and Effect of Electrode Distance and Area on Electricity Production", *Bioresource Technology*, 98:2879-2885.
- [65] Galvez, A., Greenman, J. ve Ieropoulos, I., (2009). "Landfill Leachate Treatment with Microbial Fuel Cells; Scale-up Through Plurality", *Bioresource Technology*, 100:5085-5091.
- [66] Greenman, J., Galvez, A., Giusti, L. ve Ieropoulos, I., (2009). "Electricity from Landfill Leachate Using Microbial Fuel Cells: Comparison with a Biological Aerated Filter", *Enzyme and Microbial Technology*, 44: 112-119.

- [67] Zhang, J.N., Zhao, Q.L., You, S.J., Jiang, J.Q. ve Ren, N.Q., (2008). “Continuous Electricity Production from Leachate in a Novel Upflow Air-cathode Membrane-free Microbial Fuel Cell”, *Water Science and Technology*, 57:1017-1021.

MAKALE

Ozkaya, B., Karadag, D., Akoglu, B., Aci, G., Taskan, E., Hasar, H., “Bioelectricity Production Using a New TiO₂-Ti Electrodes in Dual Chambered MFC”, incelemede.

**BIOELECTRICITY PRODUCTION USING A NEW TiO₂-Ti ELECTRODES IN
A DUAL CHAMBERED MICROBIAL FUEL CELL**

Bestamin Ozkaya^{1*}, Dogan Karadag¹, Busra Akoglu¹, Gökçen Acı¹, Ergin Taskan²,
Halil Hasar²

¹Yildiz Technical University, Department of Environmental Engineering, Istanbul,
Turkey;

²Firat University, Department of Environmental Engineering, Elazig, Turkey;

*Corresponding Author: Bestamin Ozkaya, bozkaya@yildiz.edu.tr

Phone: +90 (212) 383 53 74

Fax: +90 (212) 383 53 58

Yildiz Technical University Faculty of Civil Engineering
Department of Environmental Engineering
Davutpasa Mah. Davutpasa Cad. Davutpasa Campus 34220
Esenler / Istanbul /Turkey

Abstract

This study was aimed to investigate performance of a new electrode (Ti-TiO₂), enrichment of electrochemically active bacteria and determining of bioelectrochemical kinetic constants in a dual chambered microbial fuel cell (MFC).

In the first objective, with a mixed metal oxide-coated electrode (Ti-TiO₂) and carbon anode electrode 2272 mW/m² and 10 mW/m² of power was generated, respectively. The enrichment culture was electrochemically active and MFC culture was *Vagococcus fluvialis*, *Shewanella halotis*, *Clostridium sp.* and *Enterococcus sp.* Bioelectrochemical kinetic works for MFC with Ti-TiO₂ electrode revealed that the parameters by non-linear curve fitting with the confidence bounds of 95% gave good fit with the kinetic constants of $\eta = 0.35$, $K_s = 2.93$ mM and $J_{max} = 0.39$ A/m² for $T = 298$ K, $R = 8.3145$ J mol⁻¹ K⁻¹ and $F = 96.485$ C/ mol-e⁻. These results demonstrate that Ti-TiO₂ electrode can be used for power generation in MFCs.

Keywords: MFC; electrode; Ti-TiO₂; kinetics, community structure

1. INTRODUCTION

Dual chambered microbial fuel cell (MFC) has been used most commonly for the conversion of chemical energy in organic matter to electricity via catalytic reaction of microorganisms. Anodic and cathodic chambers are separated by a proton exchange membrane (PEM) while anodic chamber is kept under anaerobic conditions during the MFC operation. In addition to CO₂, electrons and protons are generated through the anaerobic oxidation of organic matters in the anodic chamber. Protons diffuse into cathodic chamber through the PEM. Electrons are transferred to anode electrode by bacteria using mediator chemicals or some bacteria produce nanowires to pass the electron to the electrode (Cheng and Logan, 2007). Electricity is produced through the transfer of electrons from anode electrode to cathode electrode with external circuit while water is produced when electrons combine with protons and oxygen in cathode chamber.

The efficiency of electricity production in MFC is dependent on several factors such as pH, temperature, substrate composition, microbial type and the performances of anode electrodes (Pant et al., 2010; Jadhav and Ghangrekar 2009;). Among these, the anode electrode plays the most crucial role in a high current production with MFC (Sun et al., 2010; Qiao et al., 2008). The anode material and its structure could directly affect the bacteria attachment, electron transfer and substrate oxidation (Li, 2007). Sustainable MFC operation requires noncorrosive, conductive, biocompatible to microbial growth, and electrochemically inert anode electrode (Kim et al., 2008; Heijne et al., 2008). Carbon-based materials such as carbon cloth, graphite as electrode materials have been conventionally used due to lower cost. The conventional electrodes have been reported as less effective due to lower conductive and surface properties. On the other hand, various metals such as Pt, Mn, Co and Ti have also been used as anode electrode (Du et al., 2007). However, the reducing of current production was reported due to the formation of thin metal oxide layer on metal electrodes at positive potentials (Shröder et al., 2003; Heijne et al., 2008). Another drawback of metal electrodes is higher cost of metal oxide for sustainable operation.

Chemical and physical modification methods have been applied frequently to overcome negative effects of the conventional carbon and metal electrodes and to enhance the performance of electrodes. Zhu et al (2011) modified anode surface by applying nitric

acid treatment and shortened start-up time to achieve the maximum voltages by 51%. Power density was increased by 58% with a modified anode electrode due to the changes of surface functional groups on the anode electrode. Lowy et al (2006) constructed modified electrode using Fe_3O_4 and the combination of Ni_2 and Fe_3O_4 , and obtained 1.5-and 2.2-fold greater kinetic activity compared to plain graphite. Incorporation of manganese ions onto the graphite anode led to a power increase by 510 folds (Park and Zeikus, 2002). Utilization of gold as a support material for anode electrode produced by 47 % more electricity relatively than carbon based anode (Sun et al., 2010). Recently, modification of carbon and metal based anodes with conductive polymers has been used as a practical approach to improve MFC performance (Watanabe, 2008). Schröder et al. (2003) increased the current density by covering a platinum electrode with polyaniline (PANI). Heijne et al. (2008) compared the uncoated and coated anodes, and reported a higher electricity production with Pt-coated titanium electrode. Morris et al. (2007) applied PbO_2 coating on Pt electrode and reported 4-fold improvement of power output and 50 % reduction in cost per unit of power compared to that obtained with uncoated Pt-cathodes. Similarly, Heijene et al., (2008) improved significantly the MFC performance by coating the surface of a titanium electrode with Pt.

TiO_2 is biocompatible, stable, and environmentally friendly, however, there is a little knowledge related to the use of TiO_2 in MFC applications. As far as we know, only one study on the application of TiO_2 anode has been reported (Qiao et al., 2008). They obtained a higher surface area with different PANI/ TiO_2 ratios, and composition of 70% TiO_2 and 30 % PANI provided 2-fold higher power density. In this study, the performance of TiO_2 coated-anode electrode was investigated for the electricity production in a dual chamber MFC. Enriched bacteria from the deep sludge of Golden Horn in Istanbul, Turkey, were used as inoculum. MFC was operated under room temperatures. The current production of TiO_2 electrode was evaluated against the carbon based electrode and the different anode materials in literature. Moreover, a bioelectrochemical kinetics model was applied to the experimental data.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1 Inoculum preparation

Inoculum culture was enriched using a bulk sediment sample taken from deep sludge of Golden Horn in Istanbul, Turkey. The enrichment was conducted using 250 ml serum bottle under anaerobic conditions. Enrichment medium contained 9 g/l glucose, 4 g/l yeast extract, 4 g/l NaHCO₃, 0.6 g/l NH₄Cl, 9.3 g/l NaH₂PO₄·H₂O, 3.2 Na₂H₂PO₄, 0.125 g/l K₂HPO₄·3H₂O, 0.1 g/l MgCl₂·6H₂O, 0.11 g/l CaCl₂·2H₂O, 3.92 g/l NaHCO₃ and minor amounts of metal ions (Fe, Zn, Co, Cu and Ni) and vitamins. The medium pH was 6.7 and 0.5 g/l cysteine was added to keep medium in anaerobic conditions. 100 ml medium was filled into bottles and flushed with nitrogen gas for 5 min to remove air, capped with a rubber stopper and stirred at 150 rpm with a magnetic stirrer. Each enrichment cycle continued 2 days at room temperature (25 °C). After the second transfer, the enriched culture was inoculated to the anode chamber.

2.2 Microbial community and phylogenetic analysis

DNAs from anaerobic MFC bacteria were extracted using a PowerSoil DNA isolation kit (MOBIO Laboratories). The extracted DNA was stored at -20 °C prior to the polymerase chain reaction (PCR). PCR was applied for the amplification of 16S rRNA fragments of the extracted DNAs using a primer set of GC-BacV3f (5'-CGC CCG CCG CGC GCG GCG GGC GGG GCG GGG GCA CGG GGG GCC TAC GGG AGG CAG CAG-3') and reverse 907r (5'-CCG TCA ATT CMT TTG AGT TT-3'). The amplification was conducted in an automated thermal cycler (TECHNE[®] from UK) using the following protocol: initial denaturation for 5 min at 94 °C, 30 cycles of denaturation for 1 min at 95 °C, annealing for 30 s at 55 °C, and extension for 1 min at 72 °C, followed by a final extension for 7 min at 72 °C. The profiles of the PCR-amplified DNA were obtained by the denaturing gradient gel electrophoresis analysis (DGGE). The DGGE analysis was performed using 8 % polyacrylamide gels with denaturing gradient from 30 % to 70% (100% denaturing solution contains 7 M urea and 40% formamide) in 1X TAE at a constant temperature of 60 °C for 22 hours. The gel was stained with Sybr-Gold (1000× concentration) for 1 hr and visualized on a UV transilluminator. The bands in DGGE gel were cut and eluted in 25 µL of sterile H₂O overnight. DNA sequences were determined by the means of the re-amplification of bands following the similar PCR protocol with the exception of primer without GC-clamp. Sequence data were analyzed by database searches in GenBank using BLAST program. A phylogenetic tree was constructed by the neighbor-joining method using the Unipro UGENE v.1.9.1.

2.3 MFC configuration

Two dual-chambered MFC reactors were operated for bioelectricity production. Each MFC was fabricated as two cylindrical chambers using plexiglass material. The chambers were identical with 12 cm long and 300 ml volume, and separated with a cation exchange membrane (CEM) from Ultrex Company (UltrexTM CMI7000, Membranes International Inc., USA). CEMs used in MFCs were sandwiched between anode and cathode electrodes. A new electrode type was supplied from Akat Engineering Company in Turkey. The electrode was a mixed metal oxide titanium (Ti-TiO₂), currently used in a different field for cathodic protection of pipelines. Same electrodes were used in anode and cathode compartments. Titanium based composite electrodes included an electro catalytic coated mixed metal oxide such as titanium oxide, niobium oxide, and ruthenium oxide. Electro catalytic coating is carried out with the thermal decomposition of mixed metal salts sprayed on titanium. It has crystal structure with density of 6-12 gr/cm³, resistivity of 0.00001 ohm x cm, a large surface area with the B.E.T. surface of 20-50 m²/gr as physical and chemical properties with the dimensions of 10 cm (longitude) x 1 cm (width) x 0.2 cm (thickness).

In order to compare the performance of electrodes used, two MFCs were operated in batch mode. MFC-1 has the electrodes of Ti-TiO₂ coating electrode while the MFC-2 has the fine grade graphite electrodes. All electrodes have same dimensions, 10 cm height, 2 cm long and 0.2 cm thick with 20 cm² surface area. Electrodes were connected through a fixed resistance of 10 ohm. The oxidation-reduction potentials of anode and cathode compartment were recorded Ag/AgCl reference electrode. Measurements were made online using a digital multimeter (Fluke-8846) with 6.5 digits and recorded for each 3 minutes. MFC current was calculated via the voltage on 10 ohm and 1 watt metal film resistor connected anode and cathode ends. It can be formulated as; $I \text{ (MFC)} = V(\text{Recorded}) / R$ (I: current, V: voltage, R: Resistance, 10 ohm). Resistance was verified before using the digital multimeter as nearly 10 ohm. In this study, an open circuit voltage in MFC was carried out by measuring voltage between anode and cathode ends with the fixed resistance of 10 ohm. A digital multimeter (Fluke-8846) with 6.5 digits was used and data was recorded to a computer as excel file via the on-line system. Figure 1 shows voltage measurement system of glucose based MFC (see for details Ozkaya et al., 2010). Schematic view of MFC reactor is shown in Figure 1.

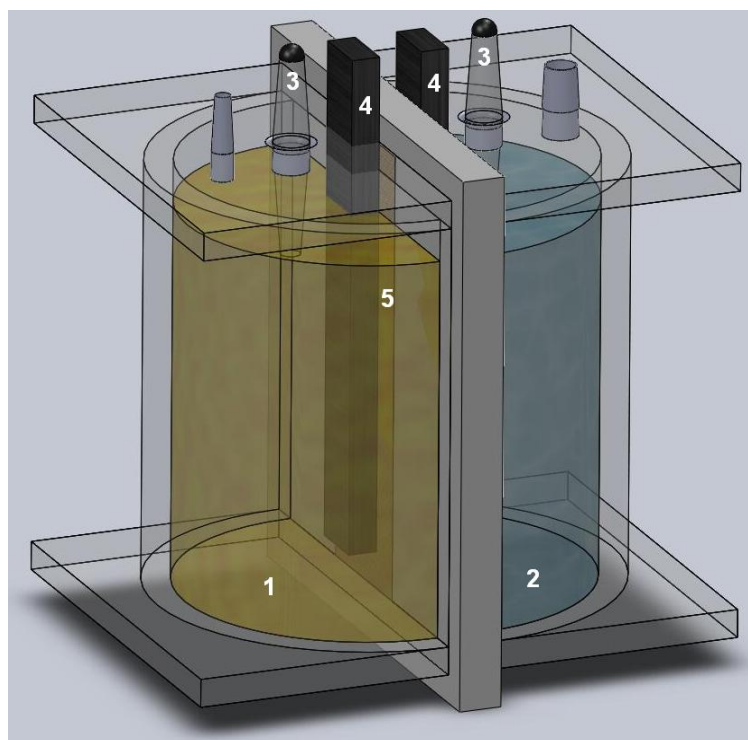


Figure 1 Schematic view of dual chambered MFC (1: Anode chamber, 2: Cathode chamber, 3: Reference electrodes, 4: Electrodes, 5: Membrane)

2.4 MFC operation

MFC reactors operated in batch mode were stirred continuously at 150 rpm using a magnetic stirrer at room temperature (25 ± 2 °C). 250 ml of anode chamber was filled with the same nutrient composition and then sparged with nitrogen to make anaerobic conditions. Subsequently, anaerobic anode reactor was inoculated with 50 ml enrichment culture. Cathode chamber was filled with distilled water and aerated continuously using an air pump. Once per day, 30 ml of liquid medium was taken from anode chamber, and then 30 ml of 10 fold-concentration of nutrient medium was replaced to reactor using a syringe. At the same time, the water in the cathode chambers was refreshed daily. During the experiments, no pH adjustment was done in anode and cathode medium.

2.5 Bioelectrochemical Kinetics

Anode respiring bacteria (ARB) use the anode as their terminal electron acceptor. Because the anode is a solid, it does not have a concentration that controls the kinetics of respiration; instead, the ARB respond to the anode potential (Lee, H-S., et al., 2010).

ARB kinetics as a function of the anode potential with the Nernst-Monod equation represented in Marcus et al. (2007) (for details see Marcus et al. (2007) and Lee, H-S., et al., 2010):

$$J = J_{max} \times f(\text{biological factor}) \times f(\text{electrochemical factor}) \quad (1)$$

where, J is current density in A/m^2 equivalent to the substrate utilization rate; J_{max} is the maximum current density (A/m^2), which equals to $[J_{max} = 0.14 f_e q_{max} X_f L_f]$ (0.14 is a conversion constant for changing $g \text{ COD}/m^2\text{-d}$ into A/m^2 ($0.14 A = 1 g \text{ COD}/\text{day}$), q_{max} is the maximum rate of substrate utilization ($g \text{ COD}/g \text{ VSS}\text{-day}$), X_f is the density of ARB in the biofilm ($g \text{ VSS}/m^3$), L_f is the biofilm thickness (m), and f_e is fraction of electron equivalents removed from the donor and turned into current.

$(S_d / S_d + K_{sd})$ equation, mentioned in Monod, stands for normal biofilm modeling due to related to kinetics occurring from soluble substrates. Although biofilm anode could not be oxidized, reduced and dissolved, electrons are transferred in order to maintain electrical – potential gradient. In this way, anode and biofilm anode could be admitted as an “anodic electron acceptor”. Anodic electron acceptor (EA) was related to EA concentration and using Nernst equation. This equation is represented in eq (1):

$$E_{Anot} = E_A^0 - \frac{RT}{nF} \ln \left(\frac{S_a^0}{S_a} \right) \quad (2)$$

where

S_a^0 = a standard anodic – EA concentration ($1 \text{ mmol} - EA \text{ cm}^{-3}$), E_A^0 = standard reduction potential for the anodic EA (V), R = ideal gas constant ($8.3145 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$), F = Faraday constant ($96,485 \text{ Coulomb per mol} - e^-$), T = temperature (298.15 K), n = number of electrons transferred to the anodic E_A .

In the part of electrochemical factor;

$$\eta = E_{Anode} - E_{KA} \text{ (V)} \quad (3)$$

E_{Anode} = Anode potential (V), E_{KA} = Anode potential giving one – half of the maximum current density (V)

The biological factor could be established to Monod equation $[S/(K_s+S)]$

S = donor substrate concentration ($g \text{ COD}/m^3$), K_s = half - maximum rate concentration ($g \text{ COD}/m^3$)

Hence the Nernst-Monod based equation for bioelectrochemical kinetics of microbial fuel cell could be expressed as:

$$J = J_{max} \left(\frac{S}{K_s + S} \right) \left(\frac{1}{1 + \exp \left(-\eta \frac{F}{RT} \right)} \right) \quad (4)$$

In our study, kinetic constants (J_{max} , K_s and η) given in Equations 2 were fitted to growth data by nonlinear regression with a Trust-Region Reflective Newton algorithm with the help of MATLAB. Trust-Region Reflective Newton algorithm is a search method to minimize the sum of the squares of the differences between the predicted and measured values the model results and coefficients (with 95% confidence interval) were calculated.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1 Electricity Generation

Estuary sediment culture from anoxic zone of Estuary (Istanbul) was enriched in batch bottles with the glucose concentration of 50 mM both 35 °C and room temperature (25±2 °C). Gas production performance and bacterial growth rate was better in batch bottles at room temperature (data not shown). Then, MFCs were started to run at room temperature in high concentration of biomass to accelerate substrate utilization rate and avoid changes of the culture at long lag phase durations, which may affect observed bioelectrochemical kinetics parameters based Monod and Nerst Equations. Figure 2 shows voltage generation between the days of 0-16th. When a stable current was generated, MFC was run at varying concentrations of 5-75 mM for kinetics studies, which shown in Figure 2 between the days of 4th and 14th. Initial 2 days period was not observed current generation in MFC. Then, current generation from reactor reached to a peak value at the end of 2 days and current decreased depending on substrate consuming. Maximum voltage generation was 4.8 mV in 5th days for 250 ml reactor volume and 10 cm² electrode surface area.

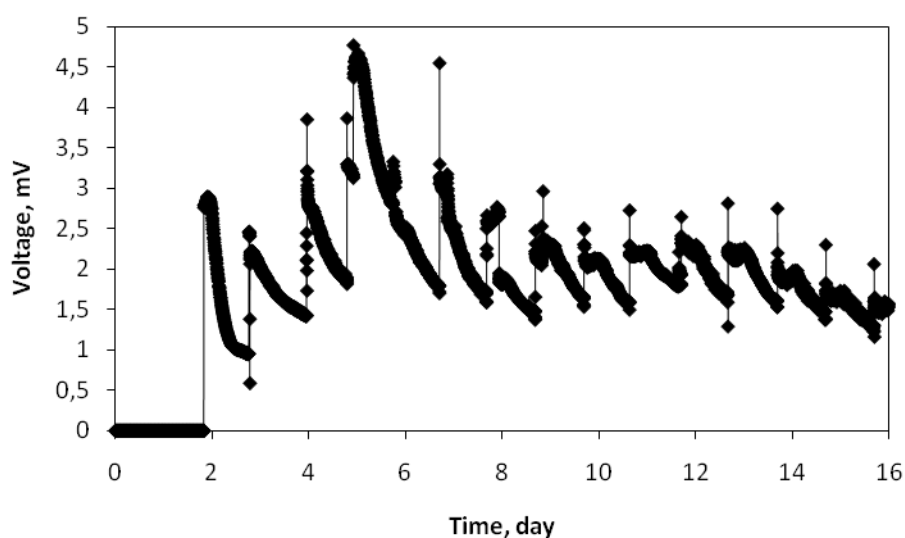


Figure 2 Voltage generation from MFC with electrode of $\text{TiO}_2\text{-Ti}$

During the first 2 days, cathodic and anodic potential values were around 50 mV and -50 mV versus Ag/AgCl. After the 2th day, the potentials reached -200 mV in anode section and cathode potential was +200 mV versus Ag/AgCl reference electrode (Figure 3). The potential of the anode remained stable in the range 175 to -100 mV versus Ag/AgCl during the periods of 5th and 30th days. Figure 3 shows reference electrode output in anode and cathode section for MFC with Ti-TiO_2 (A) and graphite (B) electrodes. There was a similar observation in MFC both Ti-TiO_2 and graphite electrode.

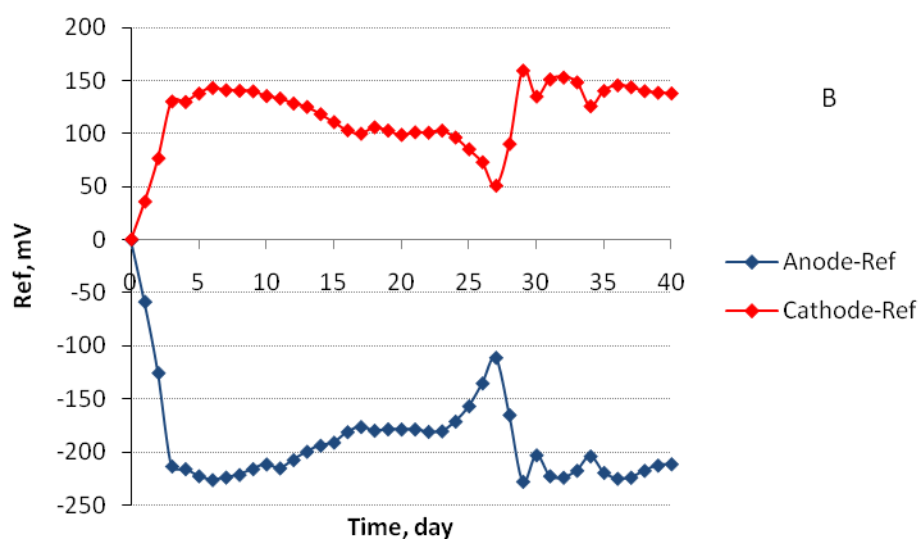


Figure 3 Reference electrode output in MFC with Ti-TiO_2 (A), Carbon (B)

Generation of maximum current and power density for fine grade graphite and Ti-TiO₂ electrodes were illustrated in Fig 4. Maximum current and power density values for Ti-TiO₂ were 476.6 mA/m² and 2400 mW/m², respectively. In the case of graphite electrode, it observed that current and power density values of graphite electrode were lower than MFC with Ti-TiO₂ electrode. The maximum current densities of MFC with Ti-TiO₂ and graphite electrodes were 476.6 mA/m² and 31 mA/m²; on the other hand the maximum power density was 2272 mW/m² and 9.61 mW/m², respectively. During the MFC operation in fed-batch mode, the cation exchange membrane was fouled with biofilms, called as biofouling. Biofouling on the cation exchange membrane could cause adverse effects on the transfer of protons through the membrane resulting in decreasing of current generation. In this study, reactor performance reduced after 15th day due to membrane biofouling. We reported that a maximum power density of 12 W/m³ in MFC for Ti-TiO₂ electrode. A maximum power density of 216 W/m³ was observed Rabaey et al. (2004) from a glucose fed-batch MFC using 100 mM ferric cyanide as cathode oxidant. Another study from Hu (2008) used an anaerobic sludge as fuel for electricity generation in MFC and compared it with glucose in a baffle-chamber membrane-less MFC. Hu (2008) reported that anaerobic sludge is very limited substrate and has a limited power output (0.3 mW/m²), whereas a maximum power output was 161 mW/m² with glucose in the same system. In our study reported a maximum power density of 2400 mW/m² in dual chamber MFC with Ti-TiO₂ electrode. Table 1 shows observed power output from different works. Power output from MFC with Ti-TiO₂ electrode was higher than the other observed results in Table 1.

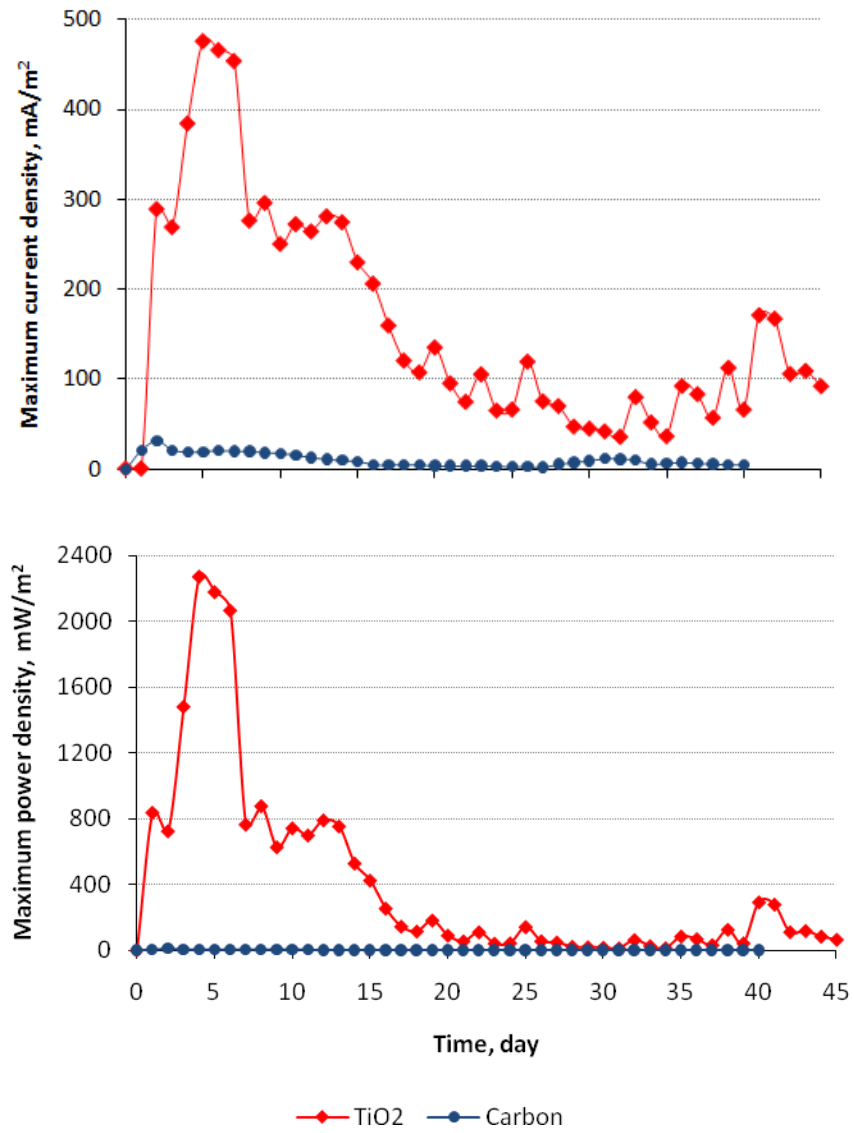


Figure 4 Power densities and current density of TiO_2 and Carbon MFCs. Operation conditions: $R=10\Omega$ in both MFCs, for TiO_2 MFC max voltage 4,77mV, max current 0,47mA, max power 2,27mW, for Carbon MFC max voltage 0,31mV, max current 0,031mA, max power 0,0096mW.

Table 1 Power density values for different works

Substrate	MFC type	Anode	Cathode	Membrane	T, °C	R, Ω	Power density	Ref.
Glucose	Dual chamber	Ti-TiO ₂	Ti-TiO ₂	CMI7000	25±2	10	2272 mW/m ²	This study
							7574 mW/m ³	
Swine wastewater	Single chamber	C paper	Pt coated C paper	Nafion 117	30	200	261mW/m ²	Min et al. 2005
	Dual chamber						45mW/m ²	
Starch processing wastewater	Air cathode single chamber	C paper	Pt coated C paper	Nafion 117	30	120	239,4mW/m ²	Lu et al. 2009
Acetate	Dual chamber	C felt	Porous titanium plate	Nafion 117	28	100	64,3mW/m ²	Chae et al. 2009
Butyrate							51,4mW/m ²	
Propionate							58mW/m ²	
Glucose							156mW/m ²	
Cheese whey	Dual chamber	C fiber paper	Pt coated C cloth	Nafion 117	35,5	100	18,4mW/m ²	Antonopoulou et al. 2010
Lactose						2000	15,2mW/m ²	
Lactose						2000	17,2mW/m ²	
Acetate	Baffled MFC	Graphite granule	Graphite granule	CMI 7000	22 ± 3	10	258W/m ³	Aelterman et al. 2006
Sucrose	Up-flow dual chamber	RVC (C foam)	RVC (C foam)	CMI 7000	35	84	170 mW/m ²	He et al. 2005
Domestic wastewater	Dual chamber	C paper	Pt coated C paper	Nafion 117	30	-	190mW/m ²	Oh and Logan, 2006
Sucrose	Dual chamber	Graphite rod	Graphite rod	Nafion 117	31 ± 2	-	10,9mW/m ²	Ghangrekar and Shinde, 2007
Landfill leachate	Dual chamber	Activated C	Activated C	Nafion 112	30	1400	2060.19 mW/m ³	You et al. 2006
	Single chamber	C paper	Pt coated C cloth	Nafion 112		150	6817.4 mW/m ³	
Landfill Leachate	Air cathode single chamber	Graphite granule	Pt coated C cloth	Nafion 117	23±2	4610	344 mW/m ³	Puig et al. 2011

m²: anode surface area, m³: reactor volume in calculations of power output.

3.2 Kinetic results

The voltage output initially increased with the glucose concentration, however, further increases above a certain level (0.35 mM) did not improve the electricity generation (Figure 5). Substrate concentration of 0-75 mM glucose (S) versus current density in

A/m^2 equivalent to the substrate utilization rate (J) is shown in Figure 5 with the fitting parameters by non-linear curve fitting in confidence bounds of 95%. Experimental results revealed that the current density (J) increased up to around $0.4 A/m^2$ after glucose concentration of 20 mM (Figure 5). The experimental data gave a reasonably good fit to the bioelectrochemical kinetics previously described in Equations 1 to 4 with R^2 value of 0.98 (Figure 5) The kinetic parameters for enrichment estuary culture for electricity production in MFC with Ti-TiO₂ electrode were as follows: η (number of electrons transferred to the anodic E_A) = 0.35, K_s (half saturation constant)=2.93 mM and J_{max} (maximum current density in A/m^2) = $0.39 A/m^2$ for the constant temperature of 298 K, ideal gas constant of $8.3145 J mol^{-1} K^{-1}$ and Faraday constant of 96.485 Coulomb per mol-e⁻. Hence, the current density becomes as follows by using observed kinetic parameters (K_s and J_{max}):

$$J = 0.39 \left(\frac{S}{2.93 + S} \right) \left(\frac{1}{1 + \exp \left[-0.35 \frac{96.485}{8.3145 \times 298} \right]} \right) \quad (5)$$

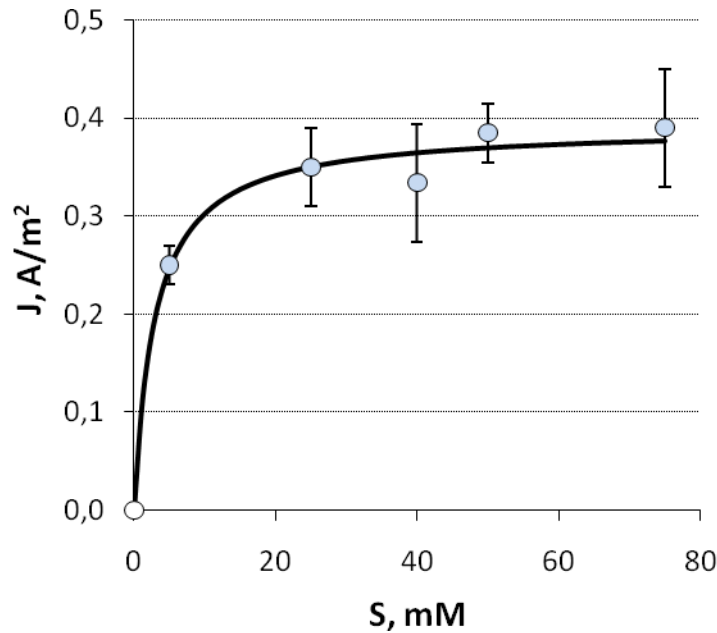


Figure 5 Substrate concentration in mM glucose (S) versus current density in A/m^2 equivalent to the substrate utilization rate (J); with the fitting parameters of F: 96.485; R: 8.3145; T= 298 K; η =0.35; 95% confidence bounds by non-linear curve fitting using MATLAB[®] (R2009b). Goodness of fit; standard squared error: 0.09166, R-square: %98, Adjusted R-square: %98, root mean squared error: 0.018.

In a study, Catal et al. investigated power generation in MFCs from 12 monosaccharides and they found maximum voltage ranged from 0.26 to 0.44 V at external resistance of 120 Ω and a half saturation constant (K_s) ranged from 110 to 725 mg/L. In the same study, glucose produced the highest maximum voltage (0.39 V) with the K_s value of 637 mg/L. In our study, the maximum voltage was 5 mV at external resistance of 10 Ω with the K_s value of 2.93 mM (527 mg/L).

3.3 Microbial Community

The microbial community structure has been proved to be a useful tool for MFC. In this paper, community analysis based 16S rRNA was determined and the DGGE patterns of partial 16 sRNA genes amplified are shown in Figure 6, for the enriched estuary culture and samples from MFCs with the electrodes of TiO₂-Ti and carbon electrodes. Figure 6 shows also phylogenetic tree and the closest relatives of DGGE bands are given in Table 2. The distribution of microbial communities changed with the presence of electrode and the microbial diversity was higher in enriched culture of serum flask than biofilms on electrodes. *Vagococcus fluvialis*, *Shewanella haliotis* and *Clostridium sp* were present in enriched culture while they disappeared in the MFC communities of two MFC reactors. On the other hand, *Enterococcus sp*, Uncultured bacterium clone and *Shewanella haliotis* were dominant in all microbial communities of enriched and MFC culture. Rabaey et al (2004) isolated *Enterococcus sp* from a glucose-fed MFC reactor inoculated with methanogenic granular sludge and reported that the power generation of pure *Enterococcus sp* was lower than mixed culture. Additionally, researchers reported that metabolic activity of *Enterococcus sp* was notably changed by the presence of an electron-accepting anode in a MFC compared to in a serum flask.

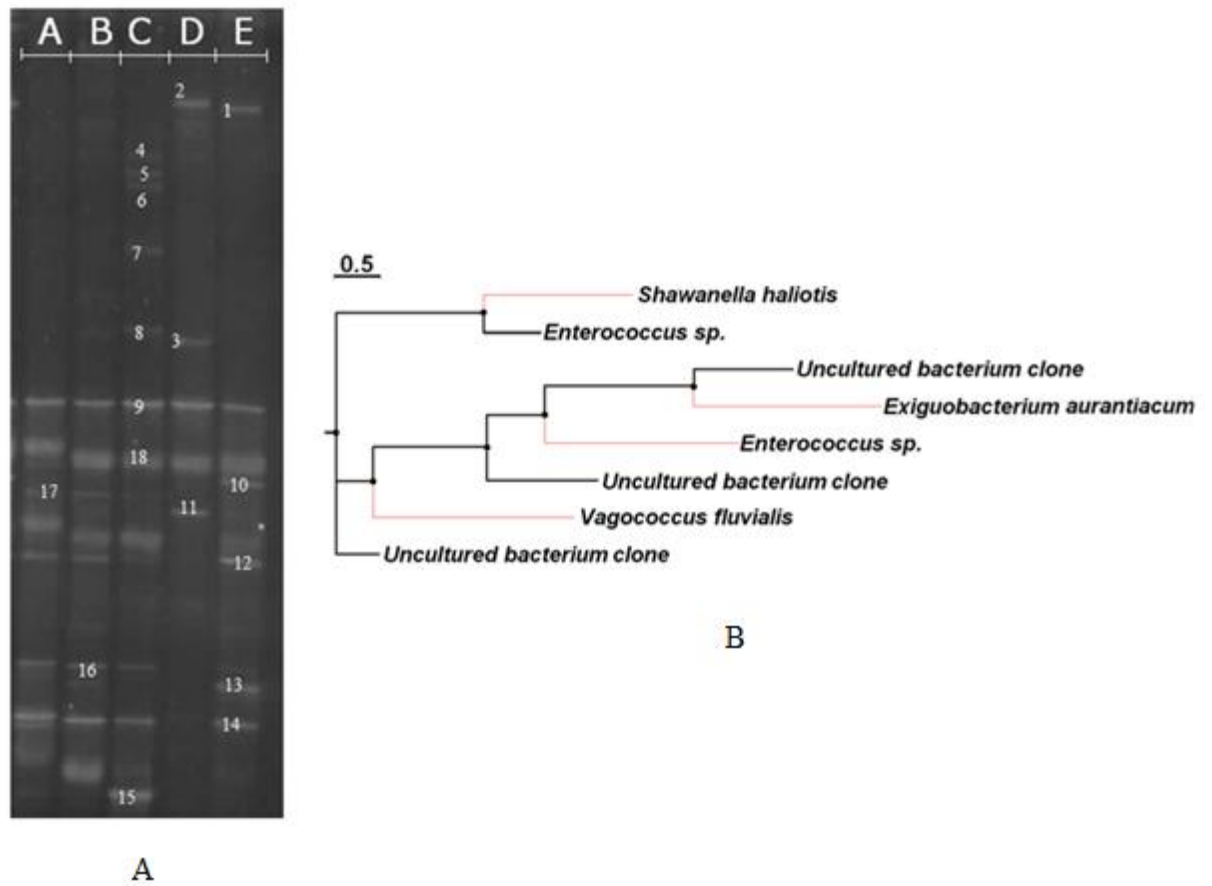


Figure 6 (A) DGGE fingerprint gel view (A: Carbon Anode (18.09.10), B: TiO₂ Anode (13.09.10), C: Haliç En-2, D: TiO₂ Anode (16.08.10), E: TiO₂ Anode (31.08.10)), (B) Phylogenetic tree

Table 2 Bacterial species identified in MFCs

Band No	Species	Accession No	Similarity
1-2	<i>Uncultured bacterium clone</i>	AY483165	%98
3	<i>Exiguobacterium aurantiacum</i>	FN997628	%91
4	<i>Vagococcus fluvialis</i>	FN997619	%96
5	<i>Shewanella haliotis</i>	FN997626	%90
6	<i>Uncultured bacterium clone</i>	AY483171	%96
9	<i>Enterococcus sp.</i>	AY489118	%99
11	<i>Enterococcus sp.</i>	AY489118	%95
13	<i>Enterococcus sp.</i>	FN997607	%95
14	<i>Shewanella haliotis</i>	FN997626	%91
15	<i>Shewanella haliotis</i>	FN997626	%91
16	<i>Uncultured bacterium clone</i>	EU704562	%94
18	<i>Enterococcus sp.</i>	AY489118	%97
19	<i>Enterobacter sp.</i>	FN997607	%94

4. CONCLUSIONS

From the study, the following conclusions can be drawn:

- 1) Graphite electrode had not ability to transfer electrons from anode to cathode.
- 2) Power generation in MFC with Ti-TiO₂ electrode was 2272 mW/m². Ti-TiO₂ electrode can be used for power generation in MFCs.
- 3) Electrochemically active bacteria culture bacteria in MFC from estuary sediment were *Vagococcus fluvialis*, *Shewanella haliotis*, *Clostridium sp.* and *Enterococcus sp.*
- 4) Observed bioelectrochemical kinetic constants were: number of electrons transferred to the anodic, $\eta = 0.35$; $K_s = 2.93$ mM; $J_{max} = 0.39$ A/m² for T= 298 K, $R = 8.3145$ J mol⁻¹ K⁻¹ and $F = 96.485$ C/ mol-e⁻.

ACKNOWLEDGEMENT

This paper includes MSc thesis data of Busra AKOGLU. Authors graceful acknowledge the financial support from TÜBİTAK with the project number of 109Y269. Microbial community was analyzed at Environmental Biotechnology Laboratory of Firat University (Elazığ).

REFERENCES

- 1)Aelterman, P., Rabaey, K., Pham, H.T., Boon, N. and Verstraete, W., 2006. Continuous electricity generation at high voltages and currents using stacked microbial fuel cells. *Environ. Sci. Technol.* 40, 3388-3394.
- 2)Antonopoulou, G., Stamatelatou, K., Bebelis, S. and Lyberatos, G., 2010. Electricity generation from synthetic substrates and cheese whey using a two chamber microbial fuel cell. *Biochem. Eng. J.* 50, 10-15.
- 3)Chae, K.J., Choi, M.J., Lee, J.W., Kim, K.Y. and Kim, I.S., 2009. Effect of different substrates on the performance, bacterial diversity and bacterial viability in microbial fuel cells. *Bioresour. Technol.* 100, 3518-3525.
- 4)Cheng, S. and Logan, B.E., 2007. Ammonia treatment of carbon cloth anodes to enhance power generation of microbial fuel cells. *Electrochem. Commun.* 9, 492-496.
- 5)Du, Z., Li, H. and Gu, T., 2007. A state of the art review on microbial fuel cells: A promising technology for wastewater treatment and bioenergy. *Biotechnol. Advan.* 25, 464-482.
- 6)Ghangrekar, M.M. and Shinde, V.B., 2007. Performance of membrane-less microbial fuel cell treating wastewater and effect of electrode distance and area on electricity production. *Bioresour. Technol.* 98, 2879-2885.
- 7)He, Z., Minteer, S.D. and Angenent, L.T., 2005. Electricity generation from artificial wastewater using an upflow microbial fuel cell. *Environ. Sci. Technol.* 39, 5262-5267.
- 8)Heijne, A., Hamelers, H.V.M., Saakes, M. and Buisman, C.J.N., 2008. Performance of non-porous graphite and titanium-based anodes in microbial fuel cells. *Electrochim. Acta* 53, 5697-5703.
- 9)Hu, Z., 2008. Electricity generation by a baffle-chamber membraneless microbial fuel cell. *J. Power Sources* 179, 27-33.

- 10)Jadhav, G.S. and Ghangrekar, M.M., 2009. Performance of microbial fuel cell subjected to variation in pH, temperature, external load and substrate concentration. *Bioresour. Technol.* 100, 717-723.
- 11)Kim, I.S., Chae, K.J., Choi, M.J. and Verstraete, W., 2008. Microbial fuel cells: Recent advances, bacterial communities and application beyond electricity generation. *Environ. Eng. Res.* 13, 51-65.
- 12)Lee, H.-S., Vermaas, W.F.J. and Rittmann, B.E., 2010. Biological hydrogen production: prospects and challenges. *Trends Biotechnol.* 262-271.
- 13)Li, C.M., 2007. Advanced microbial fuel cell development, miniaturization and energy and power density enhancement. School of Chemical and Biomedical Engineering, Nanyang Technological University, Singapore.
- 14)Lowy, D.A., Tender, L.M., Zeikus, J.G., Park, D.H. and Lovley, D.R., 2006. Harvesting energy from the marine sediment–water interface II Kinetic activity of anode materials. *Biosens. Bioelec.* 21, 2058–2063.
- 15)Lu,N., Zhou, S.g., Zhuang, L., Zhang, J.t. ve Ni, J.r., 2009. Electricity generation from starch processing wastewater using microbial fuel cell. *Biochem. Eng. J.* 43, 246-251.
- 16)Marcus, A.K., Torres, C.I. and Rittmann, B.E., 2007. Conduction-based modeling of the biofilm anode of a microbial fuel cell. *Biotechnol. Bioeng.* 98, 1171-1182.
- 17)Min, B., Kim. J.R., Oh, S.E., Regan, J.M. and Logan, B.E., 2005. Electricity generation from swine wastewater using microbial fuel cells. *Water Res.* 39, 4961-4968.
- 18)Morris, J.M., Jin, S., Wang, J.Q., Zhu, C.Z. and Urynowicz, M.A., 2007. Lead dioxide as an alternative catalyst to platinum in microbial fuel cells. *Electrochem. Commun.* 9, 1730–1734.
- 19)Oh, S.E. and Logan, B.E., 2006. Proton exchange membrane and electrode surface areas as factors that affect power generation in microbial fuel cells. *Biotechnological Products and Process Engineering* 70, 162-169.
- 20)Özkaya, B., Karadağ, D., Akoğlu, B., Acı, G., Taskan, E. and Hasar, H., 2010. Electricity generation in MFC using selective membrane, pp. 1222-1227, IWA Regional Conference and Exhibition 18-22 October 2010 on Membrane Technology & Water Reuse Istanbul-Turkey.

- 21)Pant, D., Bogaerta, G.V., Dielsa, L. and Vanbroekhoven, K., 2010. A review of the substrates used in microbial fuel cells (MFCs) for sustainable energy production. *Bioresour. Technol.* 101, 1533-1543.
- 22)Park, D.H. and Zeikus, J.G., 2002. Impact of electrode composition on electricity generation in a single-compartment fuel cell using *Shewanella putrefaciens*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 59, 58–61.
- 23)Puig, S., Serra, M., Coma, M., Cabre, M., Balaguer, M.D. and Colprim, J., 2011. Microbial fuel cell application in landfill leachate treatment. *J. Hazard. Mater.* 185, 763-767.
- 24)Qiao, Y., Bao, S.J., Li, C.M., Cui, X.Q., Lu, Z.S. and Bao, J., 2008. Nanostructured polyaniline/titanium dioxide composite anode for microbial fuel cells. *ACS Nano* 2, 113–119.
- 25)Rabaey, K., Boon, N., Siciliano, S.D., Verhaege, M. and Verstraete, W., 2004. Biofuel cells select for microbial consortia that self-mediate. *Appl. Environ. Microbiol.* 70, 5373-5382.
- 26)Schröder, U., Niessen, J. and Scholz, F., 2003. A generation of microbial fuel cells with current outputs boosted by more than one order of magnitude, *Angewandte Chemie International Edition* 42, 2880–2883.
- 27)Sun, M., Zhang, F., Tong, Z.-H., Sheng, G.-P., Chen, Y.-Z., Zhao, Y., Chen, Y.-P., Zhou, S.-Y., Liu, G., Tian, Y.C. and Yu, H.-Q., 2010. A gold-sputtered carbon paper as an anode for improved electricity generation from a microbial fuel cell inoculated with *Shewanella oneidensis* MR-1. *Biosens. Bioelec.* 26, 338-343.
- 28)Watanabe, K., 2008. Recent developments in microbial fuel cell technologies for sustainable bioenergy. *J. Biosci. Bioeng.* 106, 528-536.
- 29)You, S.J., Zhao, Q.L., Jiang, J.Q., Zhang, J.N. and Zhao, S.Q., 2006. Sustainable approach for leachate treatment: Electricity generation in microbial fuel cell, *J. Environ. Sci. Heal. Part A*, 41, 2721–2734.
- 30)Zhu, N., Cheni, X., Zhang, T., Wu, P., Li, P. and Wu, J., 2011. Improved performance of membrane free single-chamber air-cathode microbial fuel cells with nitric acid and ethylenediamine surface modified activated carbon fiber felt anodes. *Bioresour. Technol.* 120, 422-426.

ULUSLARARASI BİLDİRİ

B. Özkaya, D. Karadağ, B. Akoğlu, G. Acı, Ergin Taskan, H. Hasar, “Electricity Generation in MFC Using Selective Membrane”, pp. 1222-1227, IWA Regional Conference and Exhibition 18-22 October 2010 on Membrane Technology & Water Reuse Istanbul-Turkey.

Electricity Generation in MFC Using Selective Membrane

B. Özkaya*, D. Karadağ*, B. Akoğlu*, G. Acı*, Ergin Taskan**, H. Hasar**

* Yıldız Technical University, Department of Environmental Engineering, 34220 Davutpaşa-Istanbul/TURKEY (bozkaya@yildiz.edu.tr)

** Firat University, Faculty of Engineering, Department of Environmental Engineering, Elazığ/TURKEY

Abstract

Different membrane types have been using for MFC applications. Membranes provide to transport H^+ ions from anode to cathode. The main cathode compartment for a sustainable electricity generation in an MFC; however, membrane transport systems carriage cation species other than protons as well. The cathode reaction consumes transporting protons, and depending on this, pH increases via the transport of cation species other than protons, which decrease MFC performance. Furthermore, the internal resistance derived from proton mass transfer and poor oxygen reduction kinetics at the cathode limits the performance of MFC. Inorganic compounds added to the anodic compartment as nutrients result in high cation concentrations that can inhibit proton transfer through the cation-specific membrane. Development of a proton-specific membrane may be a means of solving this problem. Hence, membrane cation transport needs to be considered in the development of future MFC systems. CMI-7000 Cation Exchange Membrane with the functionality of strong acid cation exchange membrane coupled with the titanium electrode was used in newly designed MFC for this study.

Keywords: Membrane, Microbial Fuel Cell, cation transfer, performance

INTRODUCTION

A Microbial Fuel Cell (MFC) is a novel wastewater treatment process with the energy recovery from the waste. Various factors can affect the performance of an MFC including the anodic catalytic activity, fuel diffusion, and the diffusion and consumption of electrons and protons (Kim et al, 2007). MFC consists of anodic and cathodic compartments partitioned by a proton exchange membrane. Substrates are oxidized by the microbes in the anodic chamber of an MFC, in the meantime process generates electrons and protons. In the MFC process, the electrons are captured by the anode and are transported to the cathode. The protons transferring to the cathode section combine with oxygen to form water (Logan and Regan 2006; Freguia et al., 2008). Microorganisms in the anodic section take out electrons and protons during the dissimilative process of oxidizing organic substrates. Electrical current is generated by keeping microbes separated from oxygen or any other end terminal acceptor other than the anode and this requires an anaerobic anodic chamber. Currently, MFC applications

are limited because of their low power density level of several thousand mW/m^2 . In this study, a novel titanium electrode coupled with CMI-7000 Cation Exchange Membrane was used in MFC and its performance was tested with the preliminary results.

MEMBRANE FOR MFC

Membrane selection has a vital role for a long life operation for MFC applications. So, an obvious pH difference will observe between the anodic and cathodic chambers, otherwise buffer solution is not used in an MFC. The internal resistance and concentration polarization loss of MFC could be affected by selected proton exchange system, which directly depends on the power output of the MFC. The membrane allows sodium ions to transfer from one cell to the other with minimal electrical resistance (Table 1). The membrane was also reinforced with additional membranes to prevent gas product mixing and minimize back transfer of Cl^- and OH^- ions (Heitner-Wirguin, 1996). In the current study, CMI-7000 (UltrexTM from Membrane International Inc.) was tested. This membrane and Nafion 117 (from Dupont), which are monopolar membranes, are comparatively given in Table 1.

Table 1 A comparison for technical specifications of two different cation exchange membrane (CEM)

Specifications	CMI-7000 ^a	Nafion 117 ^a
Functionality	Strong acid CEM	Super-acid, catalyst, resists chemical attack, high operating temperature, etc.
Polymer structure	Gel polystyrene cross linked with divinylbenzene	Fluorocarbon Vinyl Ether Polymers
Functional group	Sulfonic acid	Sulfonic acid
Ionic form as shipped	Sodium	Sodium
Standard thickness, mm	0.45±0.025	0.183
Total exchange capacity (meq/g)	1.6±0.1	0.95-1.01
Thermal stability	90	190

(°C)		
Chemical stability range (pH)	1-10	1-8
Ohmic resistance (Ω cm ²) 0.5M NaCl	<30	15 ^b

a: Manufacturer information, b: from Harnisch et. al., 2007

The ohmic resistance of the CMI-7000 and Nafion-117 membranes are <30 and 15, respectively. The applicability of these membranes is mainly affected by the neutral pH, and the usually low ionic strength (Harnisch et. al., 2008). Currently used all membrane types for MFC cannot prevent the acidification and alkalization of the anode and cathode sections. However, this difference occurred during the MFC operation is inevitable. Since the membranes provide to transport H⁺ ions from anode to cathode compartment. As a solution, proton exchange membranes have become an vital part of fuel cells. So, it serves as a separator between the anode and the cathode, further provides the charge balancing proton transfer from the anode to the cathode. The proton exchange membranes are high proton conductivity, high chemical stability, and a comparably low permeability for oxygen and most fuels (Harnisch et. al., 2007).

MATERIAL AND METHODS

The present MFC system consisted of two plexiglas cylindrical chambers of 300 ml effective volume separated with a cation exchange membrane. The MFC operated in batch mode with the concentration of 50 mM glucose. On each side of the membrane consisted of two titanium electrodes. Ion transfer illustration for MFC is shown in Figure 1. As shown in Figure 1, the fuel i.e. organic matter (glucose) is degraded in the anode chamber and electrons are transferred to the cathode chamber to generate electricity. Anode chamber is operated in anaerobic mode and organic matter anaerobically degraded in this chamber so that the electrons are not consumed by electron acceptors such as oxygen ($C_6H_{12}O_6 + 6H_2O \rightarrow 6CO_2 + 24e^- + 24H^+$). Protons, generated at the anode to supply a charge balance, typically migrate through the solution to cathode to combine with oxygen and the electrons produced at the anode to form water ($6O_2 + 24e^- + 24H^+ \rightarrow 12 H_2O$). Therefore, a typical MFC comprises an anaerobic anode chamber and an aerobic cathode chamber separated by a membrane. In

the current study, a robust cation exchange membrane (Ultrex™ CMI7000, Membranes International Inc., USA) was used between the anode and cathode of the MFCs

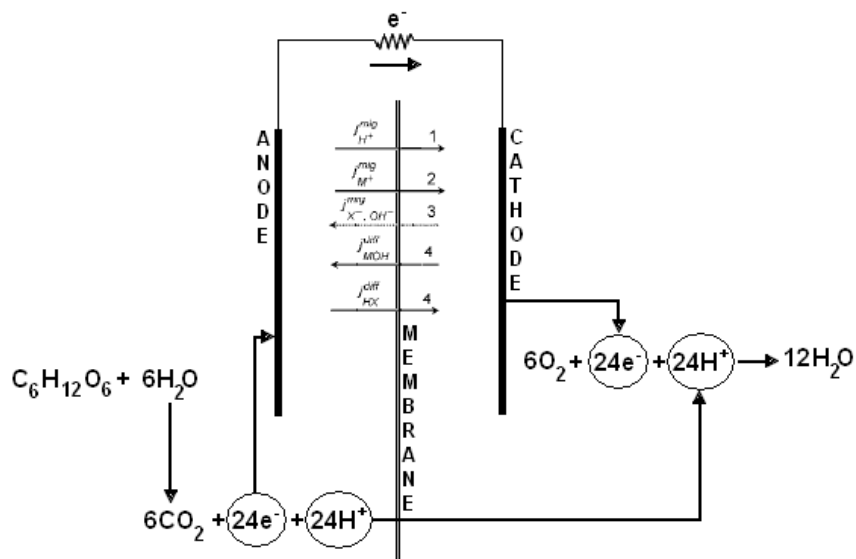


Figure 1 Ion transfer for Microbial Fuel Cell

In this study, an open circuit voltage of MFC was carried out by measuring voltage between anode and cathode ends with the fixed resistance of 10 ohm. A digital multimeter (Fluke-8846) with 6.5 digits was used and data was recorded to computer as excel file via the on-line system. Figure 2 shows voltage measurement system of glucose based MFC.

MFC current was calculated via the voltage on 10 ohm and 1 watt metal film resistor connected anode and cathode ends. It can be formulated as; $I (MFC) = V(Recorded) / R$ (I: current, V: voltage, R: Resistance, 10 ohm). Resistance was verified before using with the digital multimeter as nearly 10 ohm.

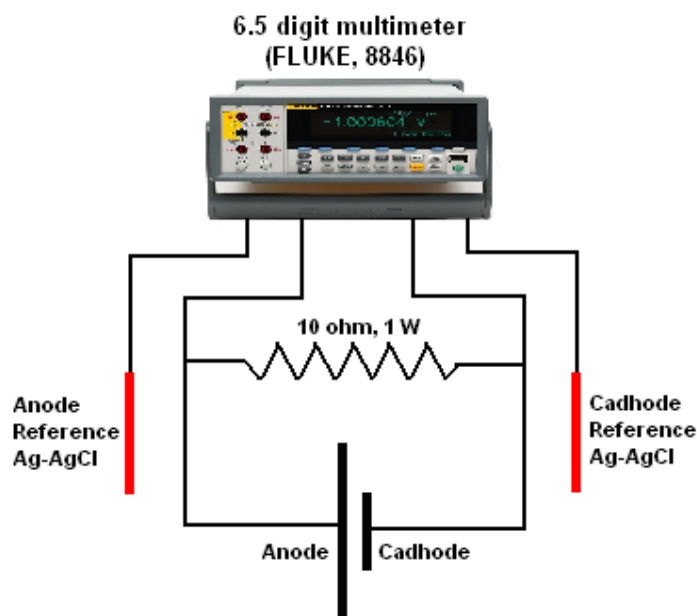


Figure 2 Voltage monitoring system

RESULTS AND DISCUSSION

In the current study, there is obvious pH difference between anode and cathode section though theoretically there will be no pH shift when the reaction rate of protons, electrons and oxygen at the cathode equals the production rate of protons at the anode. While the pH of anode compartment was 4.7 ± 0.2 , pH in cathode compartment was measured as 8.0 ± 0.2 . A slow proton transport rate for the cathodic reaction should be for the sustainable operation of MFC. Jang et al. (2004) supplied an HCl solution for the increasing of ionic strength of cathodic section and observed that the current output increased. The authors suggest that the proton availability to the cathode is a limiting factor in electricity generation. In another study NaCl was added to MFC cathode section for increasing ionic strength and similar observation found that the power output improved (Liu et al., 2005). Therefore, membrane selection and ion transfer rate has a vital important role for improving power output in MFC. CMI-7000 and Nafion membranes are commonly used in the current literature for highly selective permeability of protons. In the current study, CMI-7000 cation exchange membrane was used and results were discussed below.

MFC was fed with the concentration of 50 mM glucose in batch mode and the change of current and voltage generations are show in Figure 3 at an operating temperature of 24 ± 4 °C (data not shown) for a period of one week. The generation of voltage was not

observed in the first two days. However, the current generations of MFC system was reached to peak values when fed every 50 mM glucose. A maximum value of current generation was 462.6 mA/m^2 (1541.9 mA/m^3), whereas it was 4766.7 mV/m^2 (15888.8 mV/m^3) for voltage generation from MFC system consisting of titanium electrode and CMI-7000 membrane (Figure 3, 4). Similarly, data showed that the MFC displayed a maximum power of 2204 mW/m^2 corresponding 7349.6 mW/m^3 (Figure 5).

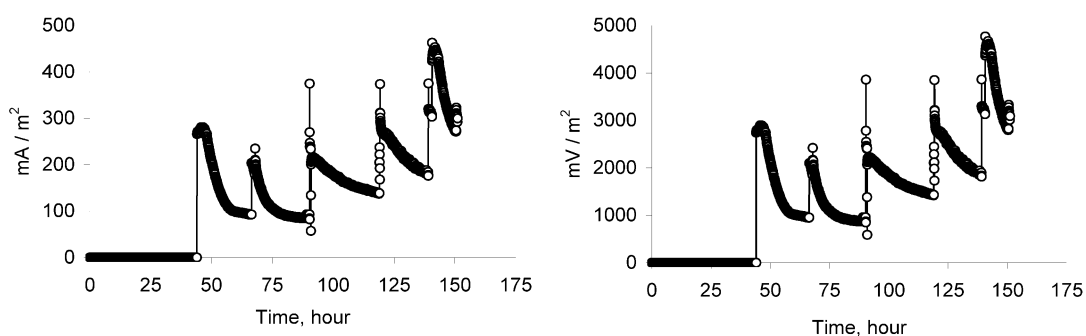


Figure 3 Current and voltage generation from MFC with the CMI-7000 type membrane and titanium electrode (50mM glucose)

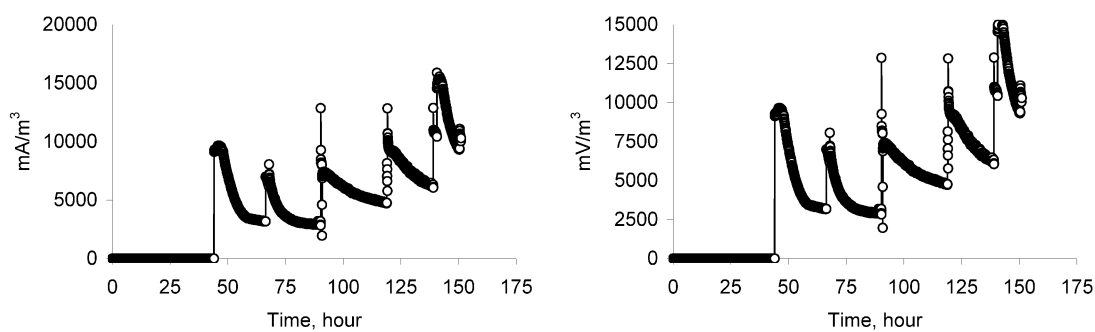


Figure 4 Current and voltage densities of MFC

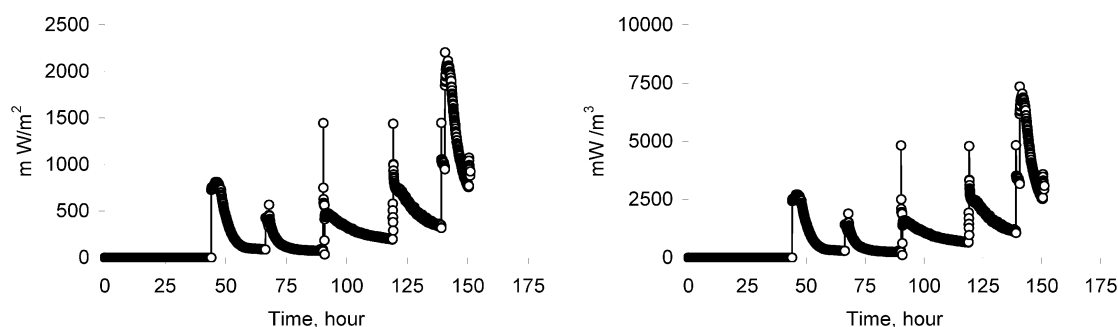


Figure 5 Power densities in MFC

CONCLUSION

Currently, power output from MFC reactors has been increasing but not enough to the level of the primary power target, and scale-up and durability are now becoming primary areas in MFC research. In this study, titanium electrode and CMI-7000 membrane was a good pair with the high power output in MFC system when compared with the other literature studies.

ACKNOWLEDGEMENT

We thank Serdar Bolukbasioglu for advice on system set-up for the current and voltage measurements, funding for the work has been received from the Scientific and Technological Research Support Council of Turkey TUBİTAK with the project number of 109Y269 and a special thanks to Professor Olli H. Tuovinen from Ohio State University for the valuable advice on membrane selection.

REFERENCES

- Freguia S, Rabaey k, Yuan Z, Keller J. Sequential Anode–Cathode Configuration Improves Cathodic Oxygen Reduction and Effluent Quality of Microbial Fuel Cells, *Water Research*, (2008), 42 1387-1396.
- Harnisch F, Schröder U, Scholz F. The Suitability of Monopolar and Bipolar Ion Exchange Membranes as Separators for Biological Fuel Cells, *Environmental Science and Technology*, 2008, 42 (5) 1740-1746.
- Heitner-Wirguin, C. Recent advances in perfluorinated ionomer membranes: structure, properties and applications, *Journal of Membrane Science*, (1996), 120 1-33.
- Jang JK, Pham TH, Chang I, Kang KH, Moon H, Cho KS, Kim BH. Construction and operation of a novel mediator- and membrane-less microbial fuel cell ,*Process Biochemistry*, (2004), 39(8) 1007-1012
- Kim BH, Chang IS, Gadd GM. Challenges in Microbial Fuel Cell Development and Operation, *Applied Microbiolog and Biotechnology*, (2007), 76 485-494.

Liu H, Cheng S, Logan BE, Power generation in fed-batch microbial fuel cells as a function of ionic strength, temperature, and reactor configuration, *Environmental Science and Technology*, (2005), 39 5488-5493.

Logan BE, Regan JM. Microbial Fuel Cells-Challenges and Applications, *Environmental Science & Technology*, (2006), 5172-5180.

ULUSLARARASI BİLDİRİ

Bestamin Özkaya, Dogan Karadag, Busra Akoglu, Gokcen Aci, Ergin Taskan, Halil Hasar, “Bioelectrochemical Kinetics for Microbial Fuel Cell”. 3rd International Microbial Fuel Cell Conference, 6-8 June 2011, Netherlands.



BIOELECTROCHEMICAL KINETICS FOR MICROBIAL FUEL CELL

Bestamin Ozkaya*, Dogan Karadag, Busra Akoglu, Gokcen Aci, Ergin Taskan, Halil Hasar

Yildiz Technical University, Department of Environmental Engineering, Istanbul, Turkey

Firat University, Department of Environmental Engineering, Elazig, Turkey

*Corresponding Author: Bestamin Ozkaya, bozkaya@yildiz.edu.tr



Abstract

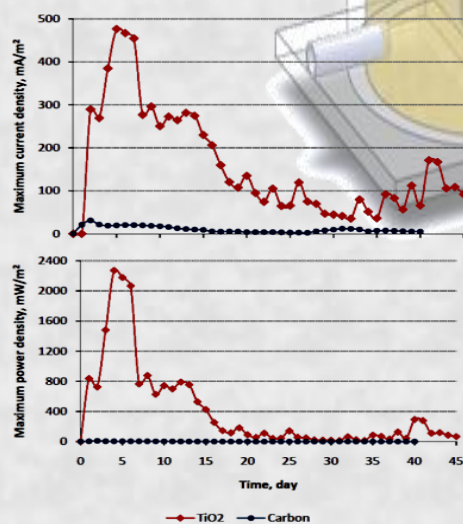
This study aimed to generate electricity using glucose as a substrate with different concentrations from 25 to 75 mM in microbial fuel cell (MFC). Mixed metal oxides coated titanium and carbon electrodes were used for anode and cathode compartment. In order to compare performance of electricity generation for TiO_2 electrode and carbon electrode, two MFC reactors were operated with these electrodes. During consuming glucose via biochemical reactions performed by microbial community, it was estimated that generating electricity for TiO_2 electrode had higher amount of power density than carbon electrode. It was achieved that maximum power density of 2272 mW/m^2 and maximum current density of 476 mA/m^2 for TiO_2 electrode in the glucose – fed MFC. A developed kinetics equation combined Nernst-Monod equations was used for current density modeling. In this study, bioelectrochemical kinetics with Nernst – Monod equation and modeling parameters were calculated by MATLAB® computer program using non-linear curve fitting tools with the confidence bound of 95%.

MFC Operation

MFC reactors were operated in batch mode and stirred continuously at 150 rpm using magnetic stirrer under room temperature (25±2 °C). 250 ml of anode chamber was filled with the same nutrient composition of enrichment and sparged with nitrogen to make anaerobic conditions. Subsequently, anaerobic anode reactor was inoculated with 50 ml enrichment culture. Cathode chamber was filled with distilled water and aerated continuously using air pump. Once per day, 30 ml of liquid medium was taken from anode chamber and replaced with 30 ml of 10 fold-concentration of nutrient medium using syringe. At the same time, the water in the cathode chambers was refreshed daily. During the experiment, no pH adjustment was done in anode and cathode medium.

Electricity Generation

When a stable current was generated, MFC was run at varying concentrations of 5-75 mM for kinetics studies, which shown between the days of 4th and 14th. Initial 2 days period was not observed current generation in MFC. Then, current generation from reactor reached to peak value at the end of 2 days and current decreased depending on substrate consuming. Maximum voltage generation was 4.8 mV in 5th days for 250 ml reactor volume and 10 cm^2 electrode surface area.



Current and power density values of graphite electrode were lower than MFC with TiO_2 electrode. The maximum current densities of MFC with TiO_2 and graphite electrode were 476.6 mA/m^2 and 31 mA/m^2 ; on the other hand the maximum power density was 2272 mW/m^2 and 9.61 mW/m^2 , respectively. During the MFC operation in fed-batch mode, the cation exchange membrane was fouled with biofilms called as biofouling. Biofouling on the cation exchange membrane could cause adverse effects on the transfer of protons through the membrane resulting in decreasing of current generation. In this study, reactor performance reduced after 15th day due to membrane biofouling. We reported that a maximum power density of 7.6 W/m^3 in MFC for TiO_2 electrode.

Bioelectrochemical Kinetics

ARB kinetics as a function of the anode potential with the Nernst Monod equation represented in Marcus et al. (2007) (for a details see Marcus et al. (2007) and Lee, H-S., et al., 2010). Nernst-Monod based equation for bioelectrochemical kinetics of microbial fuel cell could be expressed as:

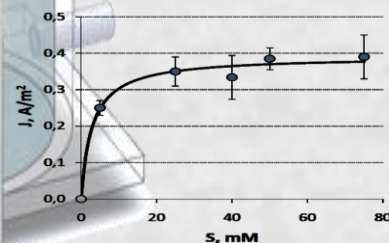
$$j = j_{\max} \frac{S}{K_s + S} \frac{1}{1 + \exp\left[-\frac{F}{RT}\right]}$$

Biological factor Electrochemical factor

In our study, kinetic constants ($j_{\max}$, K_s and η) given in Nernst equation were fitted to growth data by nonlinear regression with a Trust-Region Reflective Newton algorithm with the help of MATLAB.

Kinetic Results

Substrate concentration of 0-75 mM glucose (S) versus current density in A/m^2 equivalent to the substrate utilization rate (J) is shown with the fitting parameters by non-linear curve fitting in confidence bounds of 95%. Experimental results revealed that the current density (J) increased up to around 0.4 A/m^2 . After glucose concentration of 20 mM.



The kinetic parameters for enrichment estuary culture for electricity production in MFC with TiO_2 electrode were as follows: η (number of electrons transferred to the anodic EA) = 0.35, K_s (half saturation constant)=2.93 mM and $j_{\max}$ (maximum current density in A/m^2) = 0.39 A/m^2 for the constant temperature of 298 K, ideal gas constant of 8.3145 $\text{J mol}^{-1} \text{K}^{-1}$ and Faraday constant of 96.485 Coulomb per mole. Hence, the current density becomes as follows by using observed kinetic parameters (K_s and $j_{\max}$):

$$J = 0.39 \left(\frac{S}{2.93 + S} \right) \left(\frac{1}{1 + \exp\left[-\frac{0.35 \cdot 96.485}{8.3145 \times 298}\right]} \right)$$

Goodness of fit parameters were standard squared error: 0.09166, R-square: %98, Adjusted R-square: %98, root mean squared error: 0.018.

Acknowledgement

This paper includes MSc thesis data of Busra AKOGLU. Authors graceful acknowledge the financial support from TÜBİTAK with the project number of 109Y269. Microbial community was analyzed at Environmental Biotechnology laboratory of Firat University.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı :Büşra AKOĞLU
Doğum Tarihi ve Yeri :01.10.1983 Üsküdar
Yabancı Dili :İngilizce
E-posta :akoglubusra@yahoo.com

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Okul/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Lisans	Çevre Mühendisliği	Yıldız Teknik Üniversitesi	2008
Lise	Fen Bilimleri	Üsküdar Kız Lisesi (Y.D.A.)	2001

YAYINLARI

Makale

1. B. Ozkaya, D. Karadag, **B. Akoglu**, G. Acı, E. Taskan, H. Hasar, “Bioelectricity Production Using a New TiO₂-Ti Electrodes in Dual Chambered MFC”. İncelemede.

Bildiri

1. B. Ozkaya, D. Karadag, **B. Akoglu**, G. Acı, E. Taskan, H. Hasar, “Electricity Generation in MFC Using Selective Membrane”, pp. 1222-1227, IWA Regional Conference and Exhibition 18-22 October 2010 on Membrane Technology & Water Reuse Istanbul-Turkey.

2. B. Özkaya, D. Karadag, **B. Akoglu**, G. Aci, E. Taskan, H. Hasar, “Bioelectrochemical Kinetics for Microbial Fuel Cell”, 3rd International Microbial Fuel Cell Conference, 6-8 June 2011, Netherlands.

Proje

1. 109Y269 no’lu TÜBİTAK Projesi, “Mikrobiyal Yakıt Hücresi ile Asit Oluşumu ve Metan Oluşumu Safhasındaki Katı Atık Depolama Alanı Sızıntı Sularından Elektrik Üretimi”.